THE UNIVERSITY
OF ILLINOIS
LIBRARY

589.05
CE
~~Scnf~~ v.69

BOTANY
DEPARTMENT

BIOLOGY

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung. 69. Band

Originale

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. F. Loeffler
Geh. Med.-Rat in Greifswald

Prof. Dr. R. Pfeiffer
Geh. Med.-Rat in Breslau

und

Prof. Dr. M. Braun
Geh. Reg.-Rat in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm und
Geh. Reg.-Rat in Berlin

Dr. A. Weber
Geh. Reg.-Rat in Berlin-Lichterfelde

Erste Abteilung. 69. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie
und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 16 Tafeln und 37 Abbildungen im Text

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1913

17 K 5

589.05
CE
v.69

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 69. Heft 1/2.
Ausgegeben am 3. Mai 1913.

Nachdruck verboten.

Ist der Tetanusbacillus grampositiv?

[Aus dem Städtischen Hygienischen Institute zu Frankfurt a. M. (Direktor: Prof. Dr. M. Neisser); bakteriologische Abteilung (Vorstand: Dr. H. A. Gins).]

Von Dr. **H. Eymer,**
Assistenzarzt an der Heidelberger Universitätsfrauenklinik (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. C. Menge).

Wohl sämtliche Lehr- und Handbücher, in denen die pathogenen Mikroorganismen abgehandelt werden, ebenso wie die Spezialarbeiten über den Tetanusbacillus[1]), bezeichnen den Bacillus ohne Einschränkung als gram**positiv.** Trotzdem kann hiervon ohne weiteres nicht die Rede sein.

Wenn auch die theoretischen Grundlagen der besagten Färbung (Christian Gram, 1884) noch keineswegs sichergestellt sind, so ist doch der praktische Wert dieser Tinktionsmethode über jeden Zweifel erhaben. Gerade die praktisch wichtige Seite der Frage gibt uns auch die Berechtigung, auf die Korrektionsbedürftigkeit der Angaben über die Färbbarkeit des Tetanusbacillus hinzuweisen.

In die bakteriologische Abteilung des Frankfurter Hygienischen Institutes wurde Material von einem an Tetanus Erkrankten eingeliefert. Der betreffende Mann hatte sich in der Sylvesternacht durch Schuß mit einer Platzpatrone eine Verletzung beigebracht. Es lagen kleine Wundexzisionsstückchen zur Untersuchung vor, die etwas schmierig belegt, leicht zerklüftet und bräunlich verfärbt waren. Außerdem konnten aus der Wunde zwei kleine, im ganzen wohl nicht pfennigstückgroße Pappestückchen herausgenommen werden, die aus der Platzpatrone stammten,

1) Abel, Taschenbuch. 12. Aufl. 1908; Baumgarten, Lehrb. 1911; Bongert, Bakteriolog. Diagnostik für Tierärzte. 1908; Dönitz, Enzyklop. d. Hyg. v. Pfeiffer u. Proskauer. 1905; Emmerich u. Trillich, Anleitung zu hygien. Untersuch. München 1902; Enzyklopädie d. mikroskop. Techn. 1903; Fischer, Anleitung zu hygien. Untersuch. Berlin 1910; Friedberger u. Fröhner, Pathol. u. Ther. d. Haustiere. Stuttgart 1900; Funck, Manuel de bactériologie clin. Bruxelles 1901; Günther, C., Einführung in d. Studium d. Bakteriologie. 6. Aufl. Leipzig 1906; Heim, Lehrb. d. Bakteriologie. 3. Aufl. 1906; Hutyra u. Marek, Pathol. u. Ther. d. Haustiere. Jena 1905; Jess, Kompend. 1902; Jordan, Bacteriology. 3. Aufl. Philadelphia 1912; Jost, Grundzüge d. bakteriolog. Diagnostik. Berlin 1901; Kamen, Anleitung z. Durchführung bakteriolog. Untersuch. Wien 1903; Kisskalt u. Hartmann, Praktikum. Jena 1907; Kitasato, S., Ueber den Tetanusbacillus. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7, 1889. p. 225; Kitt, Bakterienkunde u. pathol. Mikroskopie. 4. Aufl. Wien 1903; Klopstock-Kowarsky, Pathologie 1904; Kolle u. Hetsch, Die experiment. Bakteriol. u. d. Infektionskrankh. 2 Bde. 1911; Lehmann u. Neumann; Atlas und Grundriß d. Bakteriol. München 1912; Levy-Wolf, Bakteriolog. Notiz- u. Nachschlagebuch. Straßburg 1897; v. Lingelsheim in Kolle u. Wassermann, Handbuch 1912/13; Marx, Experiment. Diagnostik. 2. Aufl. Berlin 1907; Matzuschita, Bakt. Diagnostik. Jena 1902; Migula, Kompend. d. bakteriolog. Wasseruntersuchung. Leipzig 1901; Miquel et Cambier; Pathologie. Paris 1902; Nocard u. Leclainche; Mal. microb. des animaux 2. éd. Paris 1905; Rubner, Lehrb. der Hyg. 8. Aufl. 1907; Schmidt-Weiss, Bakterien. Jena 1902; Schneidemühl, Pathologie u. Ther. d. Haustiere. Berlin 1908; Schürmeyer, Pathogene Spaltpilze. Leipzig; Weichselbaum, Handb. d. Hygiene von Weyl. 1900.

259262

also einem Materiale, das ja als tetanusinfektionsgefährlich bekannt und gefürchtet ist. Es wurden zunächst von den Wundexzisionsstücken sowie von den Platzpatronenteilen Abstriche und Originalpräparate hergestellt und dieselben unter anderem auch nach Gram gefärbt. Es sei gleich hier bemerkt, daß das Material der Wundexzisionsstücke weder im Originalpräparate noch kulturell irgend etwas auf Tetanusbacillen Verdächtiges aufwies, und daß dementsprechend auch alle Tierversuche negativ ausfielen. Anders bei der Verarbeitung der Platzpatronenteile. Im gramgefärbten Präparate, das mit Methylalkohol 5 Minuten lang fixiert war, fanden sich neben Kokken und grampositiven Stäbchen, die nicht reichlich vorhanden waren, auch vereinzelte schlanke, einmal gerade, ein anderesmal etwas gebogene, verschieden lange Stäbchen mit kreisrunden, absolut endständigen Sporen. Diese Gebilde waren nun gramnegativ. Nur die Spore zeigte regelmäßig an ihrer Zirkumferenz einen violetten Schimmer, während das Innere farblos war. Hie und da wies auch der an die Spore angrenzende Teil des Stäbchens eine leicht violette Färbung auf; auch fanden sich einige schlanke, mehr oder weniger gebogene gramnegative Stäbchen.

Die Gramfärbung wurde hier, wie auch bei allen übrigen Präparaten folgendermaßen vorgenommen: Das in der Flamme fixierte Präparat wird auf 2 Minuten mit Anilinwassergentianaviolett beschickt. Die Farbe wird dann mit Lugol-Lösung abgespült und letztere ebenfalls 2 Minuten auf dem Objekte belassen, worauf eine halbe Minute lang mit Alkohol (95-proz.) unter leichtem Bewegen des Objektträgers differenziert wird. Die Nachfärbung wird mit auf ein Zehntel verdünnter Karbol-Fuchsinlösung vorgenommen, die auf das Präparat aufgegossen und sofort wieder mit Wasser abgespült wird. Die einzelnen Zeiten werden nach der Sanduhr bestimmt.

Es bestand nun die Vermutung, daß wir es in unserem Falle mit echten Tetanusbacillen zu tun hatten, da die morphologischen Eigentümlichkeiten schön ausgesprochen waren, obwohl die Organismen entgegen der Lehre sich deutlich gramnegativ zeigten. Nunmehr wurde die Reinzüchtung versucht, die auch gelang. Die Patronenteilchen wurden zunächst in Kochsalzlösung verbracht und dann in Traubenzuckeragar kräftig hin und her bewegt, worauf der Agar in Burri-Röhrchen umgegossen wurde. Bereits nach 36 Stunden waren in der hohen Schicht neben einigen verunreinigenden Kolonieen solche zu sehen, die tetanusverdächtig waren, d. h. Kolonieen mit dichtem Kerne und feinfädigen, sehr verzweigten Ausläufern. Nach Zerschneiden der Agarsäule in dünne Scheibchen und Abbrennen der Oberfläche derselben wurden diese, nur in der streng anaëroben Zone wachsenden Kolonieen weiter in hohe Schicht verimpft. Die Reinkultur wurde in zweiter Weiterzüchtung gefärbt und erwies sich als vollkommen gleich aussehend, wie die verdächtigen Mikroorganismen im Patronenausstrichpräparate: schöne kreisrunde endständige Sporen und gramnegative Stäbchen. Bei der Weiterzüchtung erwies sich auch die Reinkultur als virulent im Tierversuche[1]).

1) In der ersten Weiterzüchtung war der Tierversuch negativ. Bei einem anderen Tetanusstamme konnten wir später dieselbe Wahrnehmung machen: Der Stamm war erst bei weiterer Fortzüchtung der Reinkultur tierpathogen. Vielleicht beruht auf dem hier Angedeuteten der Umstand, daß manche Forscher, die ein morphologisch vollkommen tetanusbacillen-gleiches Gebilde sahen, welches aber Tiere nicht spezifisch erkranken ließ, von „avirulentem Tetanus“ sprechen. Da wäre allerdings zu bemerken, daß der Beweis der gelungenen Züchtung des Tetanusbacillus nur dann erbracht ist, wenn die Reinkultur die typische Erkrankung hervorzurufen imstande ist. Doch ist

Um der Frage der Färbbarkeit des echten Bacillus tetani, mit welch letzterem wir uns schon seit einiger Zeit, bevor besagtes Material eingeliefert war, beschäftigten, näherzutreten, wurde zunächst an den uns zur Verfügung stehenden Stämmen, die weiter unten noch erwähnt werden sollen, der Beweis erbracht, daß es sich um echten Bacillus tetani handelte.

Zunächst wurde zur Identifizierung des von uns aus der Patrone isolierten Stammes der Tierversuch unter Verwendung der Antitoxinkontrolle herangezogen. Es wurden Mäuse mit der Reinkultur geimpft. Eine mittlere Oese fein zerriebener gut gewachsener Agarkultur oder eine einzelne Kolonie einer 24—48 Stunden alten Kultur wurde in eine Hauttasche des einen Beines gebracht. Andere Mäuse wurden jedesmal neben der Einverleibung des tetanusbacillenhaltigen Materiales noch mit Tetanusantitoxin gespritzt, von dem 0,5 ccm in einer Verdünnung von 1 : 10 gegeben wurden. Endlich bekamen andere Tiere statt des Antitoxins ein aspezifisches Pferdeserum subkutan. In diesem Sinne wurde mit jeder Reinkultur oder jedem tetanusverdächtigen Materiale verfahren.

Der Ablauf des Versuches war jedesmal, wenn es sich um echten Tetanus handelte der, daß die ersten Mäuse nach 1—3 Tagen an Tetanus zugrunde gingen, daß die mit Tetanusantitoxin behandelten Tiere entweder gar nicht oder nur leicht erkrankten, aber nie starben, daß endlich die mit aspezifischem Serum gespritzten Tiere erst nach 2—5 Tagen starben; aus letzterem Umstande geht hervor, daß nur aus der direkten Heilung und nicht schon aus der Verzögerung Schlüsse auf die Spezifizität gemacht werden dürfen.

Auch mit der Kochsalzabschwemmung der Patronenteile war genau das gleiche Resultat des Tierexperimentes erzielbar.

Auf die eben angedeutete Weise wurden weitere 6 Stämme geprüft. Zunächst ein Stamm, der aus altem, im Institute vorhandenem Sporenmaterial gewonnen wurde. Ferner fünf weitere Kulturen, deren eine von Kràl in Wien stammte, und von denen die anderen uns in dankenswerteste Weise von verschiedenen Instituten[1]) bereitwilligst übermittelt wurden.

In allen Fällen verliefen die Tierversuche typisch und es gelang auch, die Bacillen aus dem Tiere wieder herauszuzüchten. Sehr schwer und selten ist es, die Bacillen an der Impfstelle im Ausstrich wieder nachzuweisen. Doch erwiesen sich die Keime jedesmal als gramnegativ, einerlei, ob dieselben das Tier passiert hatten oder nicht. Allerdings hielten einige Individuen in manchen Präparaten, besonders solchen, die etwas dicker ausgestrichen waren, die Farbe fester, so daß dann bei einigen Stäbchen ein rosavioletter Ton resultierte, während die bei weitem überwiegende Mehrzahl sich rasch entfärbte. Wenn eine Plattenoberflächenkultur längere Zeit stand und dann von dieser eine neue Kultur angelegt wurde, so wies diese in der ersten Zeit ihrer Entwicklung, etwa nach 12 Stunden, auch immer einige positive Stäbchen auf.

Um eine weitere Kontrolle zu haben, wurden gleichzeitig auf demselben Objektträger ausgesprochen gramnegative und grampositive Mikroorganismen, etwa Bact. coli und Streptokokken, mitgefärbt. Jedesmal waren dann die einen absolut positiv, während die anderen und die

gerade beim Tetanusbacillus das Aussehen der Spore ungemein charakteristisch im Vergleich zu der Menge von Bakterien mit endständigen Sporen, die sich besonders aus der Erde züchten lassen. Es wäre deshalb vielleicht ratsam, bei anaëroben Bakterien mit endständigen kreisrunden Sporen eine öftere Virulenzprüfung vorzunehmen; dann dürfte vielleicht mancher „Pseudotetanusbacillus" als echter Tetanusbacillus festgestellt werden.

1) Bern, Gießen, Institut Pasteur in Paris.

Tetanusbacillen negativ waren. Allerdings verhält sich, wie aus dem oben Gesagten ja hervorgeht, der Bacillus tetani auch nicht ganz wie ein typischer gramnegativer Mikroorganismus, denn es finden sich ja hie und da auch einige, die die Farbe besser halten, wenn diese auch nie den vollkommen blauvioletten Ton der eigentlich grampositiven haben, sondern sich immer schon auf dem Wege der Entfärbung befinden.

Zur Kontrolle unserer Befunde schickten wir fixierte Präparate der verschiedenen Stämme an fünf bekannte bakteriologische Institute mit der Bitte, die Präparate nach der dort üblichen Methode zu färben und uns die Resultate wissen zu lassen. Für die Mühewaltung der betreffenden Untersucher sagen wir aufrichtigen Dank. Zwei Stellen erklärten das fragliche Individuum für uneingeschränkt negativ. Eine andere ebenfalls für negativ, aber mit dem Zusatze, daß sich hie und da die Sporen und vielleicht der angrenzende Teil des Stäbchens nicht ganz entfärbten, eine Wahrnehmung, die wir genau ebenso festgestellt hatten. Ein vierter Untersucher nimmt an, daß das Individuum mehr zu negativer Gramfärbung neige, wobei sich ebenfalls wieder einige positive Bacillen finden. Das letzte Institut endlich erklärte den Bacillus für positiv, auf dem Standpunkte fußend, daß ein Bakterium dann grampositiv sei, wenn auch nur einige Individuen im Präparate auffindbar seien, die die erste Farbe hielten; alle gramnegativen Stäbchen seien als Involutionsformen, die für die Beurteilung der Färbung nicht in Betracht kämen, aufzufassen; es fanden sich nämlich einige Sporenformen, die die erste Farbe behalten hatten, während alle sporenfreien Stäbchen gramnegativ waren.

Gegen die von uns erhobenen Befunde kann zunächst der Einwand gemacht werden, daß die Färbbarkeit mit dem Alter des Stammes oder dem der Kultur zusammenhänge, so daß ältere Stämme, resp. Kulturen gramnegativ würden. Das ist aus folgenden Gründen unwahrscheinlich. Zunächst verhielt sich der frisch von uns aus den Patronenteilchen isolierte Stamm ausgesprochen negativ. Um frische Kulturen der verschiedenen Entwicklungszeiten beobachten zu können und um die Lebensfähigkeit der Bakterien feststellen zu können, wurden Lenz-Platten, die mit Tetanusbacillen beimpft waren, nach kürzer dauerndem Wachstum, etwa nach 20—24 Stunden, unter dem Mikroskop kontrolliert, wobei sich allenthalben schönste Beweglichkeit, also Lebensfähigkeit der Stäbchen feststellen ließ, die erst zum geringsten Teile Sporen gebildet hatten. Die sofort angelegten Präparate von diesen Platten entfärbten sich fast augenblicklich. Die gleichzeitig angefertigten Zettnow-Präparate zeigten schöne Geißeln. Die Bacillen dürften sich also noch keineswegs im involutiven Stadium befunden haben. Aus allem ergibt sich, daß die Färbbarkeit mit dem Alter des Stammes oder Einzelindividuums nicht viel zu tun haben kann.

Auch die Nachfärbung kann nicht für die Gramnegativität angeschuldigt werden, zumal dieselbe auch bei anderen Bakterien als zur Gramfärbung zugehörig vorgenommen wird und die Nachfarbe nur einen Augenblick einwirkt. Auch ergab die Kontrolle mit anderen Bakterien, wie eben ausgeführt wurde, immer eindeutige Resultate.

Ebenso wurden bald alte, bald frische Gramlösungen benutzt und von verschiedenen im Institute Beschäftigten die Färbung vorgenommen, immer mit dem gleichen Resultate.

Es zeigt sich also an verschiedenem Materiale, daß der Tetanusbacillus gramnegativ erscheint, wobei sich auch einige weniger entfärbte Stäbchen finden. Und diese Feststellung dürfte nicht ohne praktische

Bedeutung sein. Denn offenbar wird zu wenig auf die gramnegativen Stäbchen geachtet und nur nach den positiven gesucht, wie z. B. die neueste Publikation auf diesem Gebiete von Kolb und Laubenheimer (Münch. med. Wochenschr. 1913. No. 9) beweist. Die Autoren schreiben bei der Mitteilung ihres interessanten Falles, der durch Kultur identifiziert worden ist:

„In Abstrichpräparaten von der Gaze, mit der die Wunde tamponiert war, fanden sich Staphylokokken, gramnegative Bacillen und grampositive plumpe Stäbchen vom Aussehen der Gasphlegmoneerreger. Außerdem wurden, allerdings ganz vereinzelt, schlanke Bacillen beobachtet, die sich ebenfalls nach Gram färbten, in Größe und Gestalt wohl an Tetanusbacillen erinnerten, aber keine Sporen zeigten."

Es dürfte sich deshalb dringend empfehlen, auch den gramnegativen Formen volles Augenmerk zu schenken; vielleicht dürfte es dann doch, zumal bei dem recht charakteristischen Aussehen der Tetanusbacillen, gelingen, den Tetanusbacillus in der Wunde schon mikroskopisch mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit zu erkennen.

Zusammenfassung.

Zusammenfassend wäre deshalb zu bemerken: Die Angabe der Lehrbücher, daß der Tetanusbacillus grampositiv sei, ist in dieser Form nicht aufrecht zu erhalten. Die Untersuchung von 7 [1]) verschiedenen Stämmen hat vielmehr gezeigt, daß nur ganz vereinzelte Individuen die Gramsche Färbung stärker festhalten, während die übergroße Mehrzahl sie so annimmt, wie es gramnegative Bakterien tun. Auch im tetanusinfizierten Tiere findet man die gramnegativen Formen ebenso, wie im tetanusinfizierten Materiale. Der Tetanusbacillus läßt sich also nach der Gramschen Methode entfärben, bis auf einzelne Individuen, welche den Farbstoff etwas stärker festhalten.

Nachdruck verboten.

Studien über die Biologie und die Morphologie des pleomorphen Streptobacillus der Pellagra.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie an der Kgl. Universität zu Bologna.]

Vorläufiger Bericht.

Von Prof. **G. Tizzoni** und Dr. **G. De Angelis.**

Im Anschluß an einige Untersuchungen, die der eine Berichterstatter dieser Mitteilung (De Angelis) über den Streptobacillus der Pellagra zu dem Zweck ausgeführt hat, die Beweglichkeit desselben zu studieren und die Geschwindigkeit seiner Bewegungen zu berechnen, haben wir Gelegenheit gehabt, sehr wichtige Fakta hinsichtlich der Biologie und der Morphologie dieses Keimes aufzudecken, welche uns instand setzen,

1) Während der Drucklegung gelang es im Institut Herrn Dr. Tashiro, einem Schüler Kitasatos, aus einer Probe Erde einen neuen Tetanusstamm herauszuzüchten; auch dieser Stamm, der natürlich ebenfalls in der erwähnten Weise auf Pathogenität geprüft wurde, verhielt sich bezüglich der Gram-Färbung genau wie die 7 anderen Stämme.

nunmehr eine genauere und zuverlässigere Klassifikation desselben vorzunehmen.

Folgendes ist in kurzer Darstellung dasjenige, was wir in dieser Hinsicht haben wahrnehmen können:

1. In den Kulturen, die in Carnot-Garnierschen Röhrchen zuwege gebracht waren, und beim Uebergang der Keime von dem ersten zum zweiten Zweig, durch die Schicht von sehr feinem Quarzsand hindurch, haben wir die Umwandlung von dem einen Kulturtypus in den andern beobachten und bei aufeinanderfolgenden Impfungen in Bouillonblut, die von dem zweiten Zweig her vorgenommen waren, den allmählichen Uebergang aus dem Typus A in den Typus B verfolgen können, so daß wir wahrnahmen, wie augenscheinliche Ketten von Bacillen oder Kokken sich an ihren Enden oder an dazwischen liegenden Stellen zu Anhäufungen von runden Elementen verwandelten, welche alle die charakteristischen Eigentümlichkeiten der Staphylokokken besaßen.

Durch den Nachweis der zwischenliegenden Phasen wurde daher dasjenige weit klarer, was hinsichtlich dieser Umwandlung in den früheren Untersuchungen behauptet worden war; denn bei diesen war es nur bekannt, daß man sehen kann, wie beim Aelterwerden der Kultur und sogar im Körper des Menschen und der Tiere ein Kulturtypus durch den anderen ersetzt wird.

Auf diese Weise haben wir die experimentelle Umwandlung der Kultur zustande bringen und sie in allen ihren Phasen verfolgen können, indem wir von einem und demselben Stamm mittels aufeinanderfolgender Umpflanzungen zwei Typen mit beständigen und untereinander sehr verschiedenen Eigentümlichkeiten erlangten, nämlich zwei Typen, die auch in den hernach erfolgenden Impfungen die ursprüngliche Streptokokken- oder die ursprüngliche Staphylokokkenform beibehielten (Typus A und Typus B).

2. Die erwähnten Verschiedenheiten betreffen sowohl die morphologischen und kulturellen Eigentümlichkeiten des Keimes, als auch das Färbungsvermögen desselben.

Von dem zweiten Zweige konnten wir nämlich eine Kultur des Typus B, welche grampositiv war, erlangen, während von dem ersten Zweige eine Kultur zuwege gebracht wurde, die derjenigen des ursprünglichen Stammes gleich war, nämlich eine Kultur des Typus A und gramnegativ, oder auch es konnte von dem zweiten Zweige in den aufeinanderfolgenden Impfungen zuerst eine Kultur erlangt werden, die auf dem Agar sehr zart erschien, kaum sichtbar war, die Form von Tautröpfchen hatte und aus langen Ketten von Streptokokken bestand, welche Gram nicht festhielten (Typus A), und später eine Kultur, die ganz das Aussehen der Kulturen der Staphylokokken hatte, die nämlich auf dem Agar eine dichte, weiße, glänzende Patina bildete und die mit Gram gefärbt blieb (Typus B).

Welches die Ursachen sind, weswegen sich mittels reiner physikalischer Mittel die erwähnten Verschiedenheiten in den charakteristischen Eigentümlichkeiten der Kultur bestimmen lassen, können wir bis jetzt noch nicht sagen.

Wir brauchen wohl nicht hinzuzufügen, daß wir uns beim Studium der oben dargelegten Fakta gegen etwa mögliche Fehler geschützt hatten, die von zufälligen Verunreinigungen und von dem Eindringen eines

banalen Keimes in unsere Kulturen an Stelle des von uns eingeimpften herrühren konnten.

3. Diese Umwandlungen haben wir bei den verschiedenen Kulturen des Typus A, die wir in unserer Sammlung aufbewahrten, beständig feststellen können; hingegen blieben die Kulturen des Typus B, wenn sie derselben Behandlung unterworfen wurden, unverändert.

Deswegen erhält das erwähnte Faktum, abgesehen davon, daß es an sich beachtenswert ist, eine um so größere Bedeutung, als es uns gestattet, alle Formen des Typus A, welches Ursprungs sie auch sein mögen, zu vereinigen, und wegen der Umwandlungen, die diese Formen beständig erfahren, alle unsere Kulturen auf einen und denselben Typus B zurückzuführen, indem wir so ihre absolute Identität feststellen, welches auch die bakterielle Form sein möge, die sie beständig oder vorübergehend in den gewöhnlich benutzten Nährmitteln darbieten.

4. Wir haben die günstige Gelegenheit gehabt, bei den Kulturen, die zu dem oben angegebenen Zweck angelegt wurden, noch einige Daten hinsichtlich des Entwicklungszyklus dieses pleomorphen Bacillus nachweisen zu können, welche uns nunmehr gestatten, eine genaue Klassifizierung desselben vorzunehmen und ihn wegen seiner morphologischen, eher als wegen seiner bakteriellen Eigenschaften in die Gattung Actinomyces Harz einzureihen.

Diese Möglichkeit vermuteten wir schon seit einiger Zeit, besonders wegen der Widerstandsfähigkeit der Kulturen gegen hohe Temperaturen, welchen die Formen von nicht sporenbildenden Bakterien nicht Widerstand zu leisten pflegen, aber es fehlten uns in dieser Hinsicht die Beweise zur Bildung eines sicheren Urteils. Und so findet sich in einer der früheren Arbeiten die Darstellung: „So haben wir, um die Widerstandsfähigkeit des Keimes der Pellagra zu erproben (welcher von mir mit dem Namen Streptobacillus pellagrae bezeichnet worden ist, und zwar nur wegen der Gestalt, in der er sich im Körper und in den künstlichen Nährmitteln zeigt, wobei ich die Frage, welche Form und welches Verhalten er in der Außenwelt annehmen kann, unentschieden gelassen habe, da wir dieses bisher noch gar nicht wissen) . . .[1]).

Wir haben nun in dieser Hinsicht nicht nur feststellen können, daß die oben beschriebenen Ketten von Bacillen und Kokken nichts anders sind als verzweigte Filamente mit einem Protoplasma, das in Häufchen von Bacillen- oder Kokkenform geteilt ist; sondern es ist uns unter gewissen Bedingungen der Kultur überdies möglich gewesen, keulenförmige Endfilamente deutlich wahrzunehmen, welche in Haufen oder Büscheln, die von einem granulösen Zentrum ausgehen, zusammenliegen und zuweilen ein gleichsam durchlöchertes Protoplasma haben.

So setzen uns die schließlich erhaltenen Resultate in den Stand, gewisse Fakta besser zu verstehen, die bis heute unerklärbar erschienen und sich als einander widersprechend darboten, nämlich die Schwierigkeit für den Keim, auf den künstlichen Nährmitteln zu gedeihen, die Verschiedenheit der bakteriellen Formen, die verschiedene Art des Verhaltens der Kulturen in Gelatine und bei der Färbung nach der Gram-

1) Tizzoni, Sulla resistenza alle alte temperature dell' agente specifico della pellagra. [Ueber die Widerstandsfähigkeit des spezifischen Agens der Pellagra gegen hohe Temperaturen.] (Boll. del Ministero di Agricoltura ecc. Anno X. Sr. C. Fasc. 9. 1911.)

schen Methode, die gelbliche oder rötlich gelbe Färbung, die dieselben mit dem Aelterwerden annehmen, ihre Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen, die Wirkungen, die sie hervorrufen, wenn sie bei Tieren (beim Meerschweinchen, beim Affen) eingeimpft werden.

Man gelangt ferner dazu, besser zu verstehen, warum derselbe Keim die häufig vorkommende Ursache einer Infektion durch beschädigten Mais sein kann, da ja bekanntlich die Actinomyceten eine weite Verbreitung haben und leichte Bedingungen für das Leben in der Außenwelt finden, und warum die entsprechenden Kulturen, wie solche vom Menschen her erlangt werden, von denjenigen der gewöhnlichen Streptokokken und Staphylokokken unterschieden werden müssen, mit welchen man sie in der Tat nicht verwechseln kann, wenn sie auch viele charakteristische Merkmale derselben an sich haben und unter manchen Bedingungen Gram festhalten und sogar endlich die Gelatine verflüssigen.

Wir behalten uns vor, in der Folge eingehendere Einzelheiten über diesen interessanten Mikroorganismus vorzubringen und den morphologischen und kulturellen Entwicklungszyklus desselben weiter zu verfolgen, indem wir Kulturmittel benutzen, die geeigneter sind als die bisher angewandten.

Bologna, den 27. Februar 1913.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Befunde bei Erkrankungen der extrarenalen Harnwege bei Kindern und Erwachsenen.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie (Dir.: Geh.-Rat Prof. Uhlenhuth) und der Kinderklinik (Dir.: Geh.-Rat Prof. Czerny) der Universität Straßburg i. E.]

Von Dr. **H. Kodama** und Dr. **N. Krasnogorski.**

Die genaue Erforschung der bakteriellen Flora bei Erkrankungen der extrarenalen Harnwege ist von besonderem Interesse, da in der letzten Zeit mit Hilfe der modernen bakteriologischen Technik nachgewiesen wurde, daß eine große Anzahl der sogenannten Cystopyelitiden nicht durch Bacterium coli commune, wie dies allgemein angenommen wurde, sondern durch verschiedene andere Bakterien hervorgerufen wird. Wie bekannt, hat Escherich[1]) im Jahre 1894 auf das relativ häufige Vorkommen dieser Erkrankungen bei Kindern, insbesondere Mädchen, aufmerksam gemacht und die ätiologische Analogie der Kindercystitiden mit Blasenentzündungen der Erwachsenen festgestellt, für welche bereits früher auf die wichtige Rolle des Bact. coli commune hingewiesen wurde. Nach dem Vortrag Escherichs wurde umfangreiches Material über Cystitiden bei Säuglingen und älteren Kindern gesammelt, wobei die Autoren in den meisten Fällen Bact. coli commune fanden. So hat Escherich[2]) unter 80 an seiner Klinik beobachteten Fällen 58mal das Bact. coli allein oder in Mischinfektion

1) Escherich, Ueber Cystitis bei Kindern, hervorgerufen durch das Bacterium coli commune. (Mitteil. d. Ver. d. Aerzte in Steiermark. 1894. No. 5.)

2) Handb. d. Kinderheilk. von Pfaundler und Schlossmann. Bd. 2. p. 577.

gefunden. Lenhartz[1]) fand in 66 von 80 Fällen und Scheidemandel[2]) in allen als alleinigen Erreger das Bact. coli commune, Finkelstein[3]), Trumpp[4]), Pfaundler[5]), G. Gaccia[6]), Tr. Cacioppo[7]), Fischer[8]), J. Thomson[9]) u. a. wiesen in den von ihnen beschriebenen Fällen von Nierenbecken- und Blasenkatarrh bei Kindern verschiedenen Alters auf Bacterium coli commune als Erreger der Entzündung hin. Auf Grund dieser Beobachtungen wurde der Begriff von Colicystitis aufgestellt, welcher bis jetzt für die Diagnose verwendet wird.

Außer den colibacillären Infektionen der extrarenalen Harnwege werden in der Literatur zahlreiche Fälle von Cystopyelitiden mitgeteilt, die durch andere Mikroorganismen bedingt sind. So z. B. wurden einige Fälle beschrieben, in denen die Autoren Casper[10]), Cornelia de Lange[11]), Zelenski und Nitsch[12]), Reblaub[13]) Staphylo- und Streptokokkeninfektion nachweisen konnten. Von gewissem klinischen Interesse sind die äußerst hartnäckigen, über Monate und Jahre sich hinausziehenden Entzündungen der extrarenalen Harnwege, welche mit Proteus-Infektion in Zusammenhang stehen. Ueber solche Proteus-Bacillosen berichten Pfaundler[14]), Lenhartz[15]), Rach und Reuss[16]), Saathoff[17]). In manchen Fällen der Kindercystitiden wurde Bacillus bifidus communis (Tissier)[18]) gefunden, (Hartmann et Roger[19]), Albarran et Cottet[20]), Rach und Reuss)[21]). Auch während Typhus- und Para-

1) Lenhartz, Ueber die akute und chronische Nierenbeckenentzündung. (München. med. Wochenschr. 1907. No. 16.)

2) Scheidemandel, E., Ueber Pyelitis bei Frauen und ihre Beziehungen zur Menstruation. (Dtsche med. Wochenschr. 1908. p. 1351.)

3) Finkelstein, Ueber Cystitis im Säuglingsalter. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 43. p. 148.)

4) Trumpp, J., Ueber Colicystitis im Kindesalter. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 44. p. 268.)

5) Pfaundler, M., Eine neue Form der Serumreaktion auf Coli- und Proteusbacillosen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 23. 1898. p. 9.)

6) Gaccia, G., La cystite chez les nourrissons. (Arch. de méd. des enfants. 1907. p. 705.)

7) Cacioppo, Fr., Pielite colibacillaria nell'età infantile. (Riv. di Clin. Ped. 1905. Giugno.)

8) Fischer, Pyelitis in infancy and childhood with remarks on the urine. (Arch. of Ped. Juin 1907.)

9) Thomson, J., On acute pyelitis due to Bacillus coli as of occurs in infancy. (Journ. of Med. 1910. April.)

10) Casper, Zur Pathologie und Therapie der Pyelitis. (Med. Klin. 1908. No. 40.)

11) Lange, Cornelia de, Ueber Pyelocystitis bei Kindern, insbesondere bei Säuglingen. (Geneesk. Bladen. 1909. p. 44; Ref. Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 72. p. 117.)

12) Zelenski, T., u. Nitsch, R., Zur Aetiologie der Cystitis im Kindesalter. (Wien. klin. Wochenschr. 1904. p. 123.)

13) Reblaub, Th., Etiologie et pathogénie des cystites non tuberculeuses chez la femme. [Thèse.] Paris 1892.

14) Pfaundler, l. c.

15) Lenhartz, l. c.

16) Rach, E., u. Reuss, A. v., Zur Aetiologie der Cystitis bei Knaben im Säuglingsalter. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 74. 1911. p. 684.)

17) Saathoff, Ein Beitrag zur Kenntnis der primären Pyelitis. (München. med. Wochenschr. 1909. p. 2262.)

18) Tissier, H., Recherches sur la flore des nourrissons. [Thèse.] Paris 1900.

19) Hartmann, H., et Roger, H., Contribution à l'étude bactériologique des cystites. (La Presse méd. 1902. p. 1287.)

20) Albarran, J., et Cattet, J., Le rôle des microbes anaérobies dans l'infection urinaire. La Presse méd. 1903. p. 85.)

21) Rach, E. und Reuss, A. v., Zur Aetiologie der Cystitis im Säuglingsalter (Bacillus bifidus communis und ein Paracolibacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. 1. Orig. Bd. 50. 1909. p. 169.)

typhusinfektionen wurden nach Angaben von Achard-Bensaude[1]), Roman[2]) Entzündungen des harnableitenden Systems beobachtet. In zwei Fällen klinisch eigenartig verlaufender Pyelocystitiden bei Erwachsenen wurden von Saathoff[3]) äußerst kleine gramnegative, nur auf Blutnährboden wachsende Bacillen nachgewiesen, welche zur Gruppe der Influenzabacillen gehören. Ferner muß erwähnt werden, daß die tuberkulösen Cystitiden, wie das Zelenski und Nitsch[4]) zeigten, viel häufiger vorkommen, als man früher annahm. In 4 Fällen haben diese Autoren 3mal durch mikroskopische Untersuchung sowie durch das Tierexperiment Tuberkuloseinfektion nachgewiesen. Endlich werden in der Litteratur Fälle chronischer, hartnäckiger Cystitis beschrieben, wo im Harn das Vorhandensein sogenannter Kapselbacillen (Klieneberger)[5]) und Boas-Opplerscher Bacillen festgestellt worden ist (Latzell[6]), Rudinger[7]), Rodella)[8]).

Außer den oben erwähnten Infektionen kommt in der Aetiologie der Cystitis eine außerordentlich wichtige Rolle gewissen Bakterien zu, welche zur Coli-Gruppe gehören, sich aber von dem von Escherich beschriebenen Typus nach morphologischen Eigenschaften sowie nach der Pathogenität unterscheiden. Mit Hilfe der modernen bakteriologischen Technik[4]) gelang es, aus diesen „Paracoli" genannten Bacillen eine große Zahl von einzelnen Arten zu isolieren. Ueber „Paracolibacillen" als Erreger von Cystopyelitiden haben Achard und Renault[9]), Blumenthal und Hamm[10]), Rach und Reuss[11]) berichtet. So haben die ersten zwei Autoren aus dem Harn cystitiskranker Kinder zwei Stämme isoliert, die sich vom Bacterium coli commune und Bact. lactis aërogenes dadurch unterscheiden, daß sie kein Indol und in Milchzuckerbouillon kein Gas bildeten. Mair[12]) hat in zwei Fällen von Cystitis im Harn „Paracolibacillen" fast in Reinkultur gefunden, welche in Glykose- und Laktosenährboden kein Gas bildeten. Auch Blumenthal und Hamm[13]) haben aus dem Harn Pyelitiskranker verschiedene Varietäten von „Paracoli" gezüchtet, welche mehr oder weniger von dem typischen Coli commune abweichen. Was die Klassifikation der Bacillen der

---

1) Zit. nach Rauch u. Reuss, l. c.

2) Roman, B., Pyelonephritis bei Nephrolithiasis durch Bacterium paratyphi B. (Wien. klin. Wochenschr. 1912. p. 1225.)

3) Saathoff, l. c.

4) Zelenski u. Nitsch, l. c.

5) Klieneberger, Kapselbacillen als Erreger chronischer Cystitis. (Dtsch. med. Wochenschr. 1908. p. 1166.)

6) Latzell, R., Ueber das Vorkommen von Milchsäurebacillen im Harnsediment. (Wien. klin. Wochenschr. 1906. p. 1479.)

7) Rudinger, C., Befund von „langen" Milchsäurebacillen im Harne bei einem Falle von Carcinoma ventriculi. (Centralbl. f. inn. Med. Bd. 25. 1904. p. 137.)

8) Rodella, A., Ueber das häufige Vorkommen des Boas-Opplerschen Bacillus im Harne bei Bakteriurien und Cystitisfällen. (Wien. klin. Wochenschr. 1909. No. 37.)

9) Achard, Ch., et Renault, J., Sur les différents types de bacilles urinaires appartenant au groupe du Bacterium coli. (Compt. rend. hebdom. des séanc. et mém. de la Soc. de Biol. T. 4. 1892. p. 983.)

10) Blumenthal, F., u. Hamm, A., Bakteriologisches und Klinisches über Coli- und Paracoliinfektionen. (Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. 18. 1908. p. 642.)

11) Rach u. Reuss, l. c.

12) Mair, Note on a Paracolonbacillus found in the urine. (Brit. med. Journ. 1908. No. 2356.)

13) Blumenthal u. Hamm, l. c.

Paracoligruppe anbelangt, so hat Gilbert[1]) dieselben nach Verschiedenheiten in ihrer Beweglichkeit, Indolbildung und Zuckergärung in 5 Typen geteilt. Weitere kasuistische Mitteilungen über den Nachweis der Paracolibacillen im Harn bei Cystopyelitiden liegen von Allen[2]), Münz[3]), Klieneberger[4]) u. a. vor.

Aus dem angeführten Material geht hervor, daß, obwohl die Entzündungen des harnableitenden Systems durch sehr verschiedene Bacillen bedingt sein können, die meisten Autoren doch geneigt sind, die Hauptrolle dem Bact. coli commune zuzuschreiben.

Unsere Untersuchungen der bakteriellen Flora bei Erkrankungen der extrarenalen Harnwege, welche auf Anregung von Herrn Geh.-R. Prof. Uhlenhuth vorgenommen wurden, haben wir an 20 Patienten durchgeführt. 8 davon waren Erwachsene, deren Harn uns von Dr. v. Lichtenberg aus der chirurgischen Universitätsklinik in liebenswürdiger Weise geliefert wurde, wofür wir ihm an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen; 12 waren Kinder, die wir in der Kinderklinik beobachten konnten. Unter den Kindern waren 9 Mädchen und 3 Knaben. In 3 Fällen fiel die Cystitis mit akuten Infekten zusammen (2 mit Scharlach, 1 mit Masern), in 2 mit Tuberkulose und in den 7 übrigen trat sie als primäre selbständige Erkrankung auf.

Für die bakteriologische Untersuchung wurde der Harn folgendermaßen gewonnen. Nachdem die äußeren Genitalien mehrmals mit Sublimat abgewaschen worden waren und das Kind etwas Harn abgelassen hatte, wurde nach nochmaliger Desinfektion der Geschlechtsteile der Harn mit sterilem Katheter entnommen.

Das Sediment des zentrifugierten Urins wurde auf Endo- und Malachitgrün-Agarplatten ausgestrichen. Nach ca. 24 Stunden langem Stehen im Brutschrank bei 37° C wurden die ausgewachsenen Kolonieen isoliert und Reinkulturen angelegt. Die auf diese Weise erhaltenen Reinkulturen wurden auf morphologische Eigenschaften, Tierpathogenität und Agglutination untersucht.

Die Resultate der Untersuchungen des Harnes der kranken Kinder sind in Tabelle Ia und IIa, der Erwachsenen in Tabelle Ib und IIb zusammengestellt. Die ersten beiden Tabellen geben einen allgemeinen Ueberblick über die Bakterienflora im Harn; Tabelle IIa und IIb zeigt die genauen morphologischen Eigenschaften sowie die Agglutination und Pathogenität der isolierten Stämme. Die kulturellen Eigenschaften wurden von uns wiederholt geprüft. Dabei konnten wir nie, obwohl die Bakterien lange Zeit auf künstlichem Nährboden fortgezüchtet worden waren, qualitative Unterschiede bemerken.

Aus diesen Tabellen kann man ersehen, daß unter den isolierten Bakterien der Coli-Gruppe außerordentliche Varianten vorkommen. Deswegen scheint es uns zweckmäßig, in Uebereinstimmung mit Gilbert[5]), nur diejenigen Stämme als Bacterium coli commune zu bezeichnen, welche sämtliche von Escherich angegebenen Merkmale aufweisen, während wir die coliähnlichen, aber doch von ihnen abweichenden Bakterien als „Paracolibakterien“ bezeichnen wollen.

1) Gilbert, A., De la colibacillose. (La Sem. méd. 1895. p. 1.)
2) Allen, Paracolon infections, with report of three cases. (Americ. Journ. of Med. Sc. 1903; ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. 1. Ref. Bd. 34. 1903. p. 508.)
3) Münz, Mitteil. d. Gesellsch. f. inn. Med. u. Kinderheilk. in Wien. 1905. 14. Dez.
4) Klieneberger, Centralbl. f. inn. Med. 1909. No. 46.
5) Gilbert, Colibacillose et Paracolibacillose. (Nouv. traité de méd. T. 9. Paris 1906.)

Tabelle Ia.

No.	Name	Alter	Diagnose	Bakteriologischer Befund	Eiweißprobe
I	Johanna D.	14 Jahre	Cystitis	Staphylococcus pyogenes aureus	—
II	Marie W.	4½ Monate	Ernährungsstörung, Cystitis	kurze Stäbchen	Sp.
III	Mathilde B.	17 „	Cystitis, Masern, Tuberkulose	Staphylococcus pyogenes albus	+
IV	Viktor R.	18 „	Cystitis, Scarlatina	kurze Stäbchen	+
V	Friedrich T.	2 „	Cystitis, Otitis, Ernährungsstörung	„ „	+
VI	Luise S.	8 Jahre	Cystitis	„ „	+
VII	Georgette H.	9 „	Cystitis	„ „	0
VIII	Elsa B.	8 „	Cystitis, Neuropathie	Staphylococcus pyogenes albus	0
IX	Josefine O.	8 „	Cystitis	kurze Stäbchen	Sp.
X	Anna F.	11 „	Cystitis, Scarlatina	„ „	+
XI	Gilbert E.	9 Monate	Pyelocystitis	„ „	+
XII	X. U.	—	Cystitis	„ „	+

Tabelle Ib.

No.	Name	Alter	Diagnose	Bakteriologischer Befund
I	Hans O.	40 Jahre	chronische doppelseitige Pyelitis	kurze Stäbchen
II	Walter	42 „	akute doppelseitige Pyelitis	„ „
III	Kollmann	30 „	rechtseitige Pyonephritis, Perinephritis	Staphylococcus pyogenes aureus
IV	Wenedine W.	26 „	chronische Cystitis	kurze Stäbchen (2 Arten)
V	Sittner	56 „	doppelseitige Nephrolithiasis	„ „
VI	Hemp	26 „	Nephrolithiasis	„ „ (2 Arten)
VII	Lindemann	50 „	intermittierende Hydronephrose	„ „
VIII	Elisabeth S.	28 „	intermittierende Hydronephrose?	„ „ (3 Arten)

Zunächst wollen wir die Resultate unserer Untersuchungen an kranken Kindern besprechen. Wie aus Tabelle IIa hervorgeht, haben wir in 12 Fällen von Kindercystitiden nur zweimal Stämme (II, IX) isoliert, welche vom Escherichschen Bacterium coli nicht zu unterscheiden sind. In 4 Fällen (X, VI, XI und IVa) wurden Bakterien gefunden, die vom Escherichschen Typus durch einige Eigenschaften abweichen und die zu den Paracolibacillen gezählt werden müssen. So z. B. unterscheiden sich die Stämme VI, X und XI vom Bacterium coli dadurch, daß sie Milch-, Trauben- und Mannitzucker nicht mit Gasbildung vergären. Außerdem bildet Stamm X auf Kartoffel einen dicken saftigen, zitronenfarbigen Belag. Stamm IVa zeigte ein atypisches Wachstum auf Malachitgrün-Agarplatten, die er nicht entfärbte.

Von besonderem Interesse sind die pathogenen Bakterien, die wir (abgesehen von den 3 Fällen I, III, VIII von Staphylokokken) in 4 Fällen (IVb, V, VII, XII) gefunden haben. Es waren kleine, schwach bewegliche kurze Stämme, die auf Endo-Platten kleine, runde, farblose Kolonieen bildeten. Ihr charakteristisches Merkmal bestand darin, daß sie

Tabelle IIa.

Stämme	Form	Beweglichkeit	Gramsche Färbung	Sporenbildung	Auf Endo-Platte	Auf Malachitgrün-agarplatte	Auf Schrägagar	Gelatinestichkultur nach 1 Woche	Milch nach 3 Tagen	Milch nach 5 Tagen	Bouillon nach 3 Tagen	Indol nach 1 Woche	Molke nach 1 Tag	Molke nach 2 Tagen	Molke nach 3 Tagen	Neutralrotagar	Traubenzuckerbouillon	Milchzuckerbouillon
II	Kurzstäbchen	+	—	—	rot	entfärbt	blauweißlicher Belag	keine Verflüssigung	+		deutliche Trübung (Häutchenbild.)	+++		hellrot		Gasbildg., Fluoreszenz	Gasbildung	Gasbildung
IVa	dgl.	+	—	—	„	nicht entfärbt	dgl.	dgl.	+		dgl.	—		hellrot		dgl.	dgl.	dgl.
IVb	„	+	—	—	farblos	dgl.	„	tellerförmige Verflüssigung	—	+	schwache Trübung	—	ohne Veränderung	deutlich blau	deutlich blau	ohne Veränderung	keine Gasbildung	keine Gasbildung
V	„	+	—	—	„	entfärbt	„	nicht verflüssigt	—	+	deutliche Trübung (Häutchen)	+++	schwach rot	schwach blau	deutlich blau	Gasbildg., Fluoreszenz	Gasbildung	dgl.
VI	„	+	—	—	rot	„	„	dgl.	+		deutliche Trübung	++		hellrot		ohne Veränderung	keine Gasbildung	„
VII	„	+	—	—	farblos	„	„	stark verflüssigt	+		deutliche Trübung (Häutchen)	—	schwach rot	deutlich blau	deutlich blau	Gasbildg., Fluoreszenz	wenig Gasbildg.	„
IX	„	+	—	—	rot	„	„	nicht verflüssigt	+		dgl.	+++		hellrot		dgl.	Gasbildung	Gasbildung
X	„	+	—	—	„	„	„	dgl.	+		deutliche Trübung	+		hellrot		„	dgl.	dgl.
XI	„	+	—	—	„	„	„	„	+		deutliche Trübung (Häutchen)	+++		hellrot		ohne Veränderung	keine Gasbildung	keine Gasbildung
XII	„	+	—	—	farblos	„	„	„	—	+	dgl.	++	schwach rot	deutlich blau	deutlich blau	Gasbildg., Fluoreszenz	Gasbildung	dgl.

Anmerkungen. a) Colisera = Titer 2000; b) Antisera aus Stamm VIIIb = Titer 5000; c) Milch + = Gerinnung; d) bei der subkutanen Impfung wurden 2 mg (1 Oese) von 24-stündiger Agarkultur, bei der intraperitonealen Impfung 0,2 ccm von 24-stündiger Bouillonkultur gewonnen.

Tabelle IIa (Fortsetzung).

Stämme	Lackmus-Nutrose-Milchzucker-lösung nach 24 Stunden	Lackmus-Nutrose-Trauben-zuckerlösung nach 24 Std.	Lackmus-Nutrose-Mannit-lösung nach 24 Std.	Lackmus-Nutrose-Mannit-agar nach 24 Std.	Loeffler I-Lösung nach		Loeffler II-Lösung nach		Kartoffel	Agglutination mit		Tierpathogen. für Maus	
					1 Tag	3 Tagen	1 Tag	3 Tagen		Colisera 1:500	Antisera von Stamm VIIIb 1:500	subkutane Impfung	intraperit. Impfung
II	Rötung, Gasbildung, Gerinnung	Rötung, Gasbildung, Gerinnung	Rötung, Gerinnung	Rötung, Gasbildung	Gasbildung, Gerinnung		Gasbildung, Gerinnung		dicker saftig-weißlicher Belag	—	—	—	+
IVa	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	entfärbt	keine Gasbildg., Gerinnung	ganz entfärbt	dgl.	—	—	+	+
IVb	sehr schwache Rötung, keine Gasbildung, keine Gerinnung	sehr schwache Rötung, keine Gasbildung, keine Gerinnung	ohne Veränderung	ohne Veränderung	ohne Veränderung		ohne Veränderung		dünner saftig-weißlicher Belag	—	—	—	+
V	dgl.	Rötung, Gasbildung, Gerinnung	Rötung, Gerinnung	Rötung, Gasbildung	ohne Veränderung	Gerinnung	Gasbildung, Gerinnung	entfärbt	dicker saftig-weißlicher Belag	—	—	—	+
VI	Rötung, keine Gasbildung, Gerinnung	Rötung, keine Gasbildung, Gerinnung	dgl.	schwache Rötung, keine Gasbildung	keine Gasbildg., Gerinnung		keine Gasbildg., Gerinnung		dgl.	—	—	—	+
VII	sehr schwache Rötung, keine Gasbildung, keine Gerinnung	Rötung, wenig Gasbildung, Gerinnung	sehr schwach. Rötung, keine Gerinnung	Obersicht blau, Untersicht ganz entfärbt	keine Gasbildung, keine Gerinnung, entfärbt	Gerinnung blau	Gasbildung, Gerinnung	entfärbt	„	—	—	+	+
IX	Rötung, Gasbildung, Gerinnung	Rötung, Gasbildung, Gerinnung	Rötung, keine Gerinnung	Rötung, Gasbildung	Gasbildung, Gerinnung		dgl.		„	—	—	—	+
X	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.		„		dicker saftig. zitronenfarb. Belag	—	—	—	+
XI	Rötung, keine Gasbildung, Gerinnung	Rötung, keine Gasbildung, Gerinnung	„	schwache Rötung, keine Gasbildung	keine Gasbildg., Gerinnung		keine Gasbildg., Gerinnung		dicker saftig-weißlicher Belag	—	—	—	+
XII	sehr schwache Rötung, keine Gasbildung, keine Gerinnung	Rötung, Gasbildung, Gerinnung	Rötung, Gerinnung	Rötung, Gasbildung	keine Gasbildung, keine Gerinnung, entfärbt	Gerinnung	Gasbildung, Gerinnung		dgl.	—	—	—	+

Tabelle IIb.

Stämme	Form	Beweglichkeit	Gramsche Färbung	Sporenbildung	Auf Endo-Platte	Auf Malachitgrün-agarplatte	Auf Schrägagar	Gelatinestichkultur nach 1 Woche	Milch nach 3 Tagen	Milch nach 5 Tagen	Bouillon nach 3 Tagen	Indol nach 1 Woche	Molke nach 1 Tage	Molke nach 2 Tagen	Molke nach 3 Tagen	Neutralrotagar	Traubenzuckerbouillon	Milchzuckerbouillon
I	Kurzstäbchen	+	—	—	rot	entfärbt	blauweißlicher Belag	keine Verflüssigung	+		deutliche Trübung	+		hellrot		Gasbildg., Fluoreszenz	Gasbildung	Gasbildung
IIa	dgl.	+	—	—	farblos	„	dgl.	dgl.	—	+	dgl.	++		schwach rot		dgl.	dgl.	keine Gasbildung
IIb	„	+	—	—	rot	„	„	„	+		deutliche Trübung (Häutchenbild.)	+		hellrot		„	„	Gasbildung
IVa	„	+	—	—	„	„	„	„	+		dgl.	++		hellrot		„	„	dgl.
IVb	„	+	—	—	farblos	nicht entfärbt	„	„	—	—	wenig Trübung	—		schwach rot		ohne Veränderung	keine Gasbildung	keine Gasbildung
V	„	+	—	—	„	entfärbt	„	„	+		dgl.	—	ohne Veränderung	deutl. blau	deutl. blau	dgl.	dgl.	dgl.
VIa	„	+	—	—	rot	„	„	„	+		deutliche Trübung (Häutchenbild.)	—		hellrot		Gasbildg., Fluoreszenz	Gasbildung	Gasbildung
VIb	„	++	—	—	„	„	„	„	+		dgl.	++		hellrot		dgl.	dgl.	dgl.
VII	„	+	—	—	„	„	„	„	+		deutliche Trübung	—		hellrot		„	„	„
VIIIa	„	+	—	—	farblos	„	„	„	+		deutliche Trübung (Häutchenbild.)	+++		hellrot		„	„	„
VIIIb	„	+	—	—	schwach rot	„	„	„	—	+	dgl.	—	ohne Veränderung	deutl. blau	deutl. blau	ohne Veränderung	keine Gasbildung	keine Gasbildung
VIIIc	„	+	—	—	rot	„	„	„	—	+	„	—		schwach rot		dgl.	dgl.	dgl.

Tabelle IIb (Fortsetzung).

Stämme	Lackmus-Nutrose-Milchzuckerlösung nach 24 Stunden	Lackmus-Nutrose-Traubenzuckerlösung nach 24 Std.	Lackmus-Nutrose-Mannitlösung nach 24 Std.	Lackmus-Nutrose-Mannitagar nach 24 Std.	Loeffler I-Lösung nach		Loeffler II-Lösung nach		Kartoffel	Agglutination mit		Tierpathogen. für Maus	
					1 Tag	3 Tagen	1 Tag	3 Tagen		Colisera 1 : 500	Antisera von Stamm VIIIb 1 : 500	subkutane Impfung	intraperit. Impfung
I	Rötung, Gasbildung, Gerinnung	Rötung, Gasbildung, Gerinnung	schwache Rötung, keine Gerinnung	Rötung, Gasbildung,	Gasbildg., Gerinnung		Gasbildg., Gerinnung		dicker, saftig-weißlicher Belag	—	—	—	+
IIa	sehr schwache Rötung, keine Gasbildung, keine Gerinnung	dgl.	Rötung, Gerinnung	dgl.	ohne Veränderung	Gerinnung	dgl.	Entfärbung	dgl.	—	—	—	+
IIb	Rötung, Gasbildung, Gerinnung	„	dgl.	„	Gasbildg., Gerinnung	Entfärbung	„		„	—	—	—	+
IVa	dgl.	„	„	„	dgl.		„		„	—	—	—	+
IVb	sehr schwache Rötung, keine Gasbildung, keine Gerinnung	Rötung, keine Gasbildung, Gerinnung	sehr schwache Rötung, keine Gerinnung	sehr schwache Rötung, keine Gasbildung	ohne Veränderung	Gerinnung	ohne Veränderung		dünner, saftig-weißl. Belag	—	—	—	+
V	ohne Veränderung	ohne Veränderung			ohne Veränderung		ohne Veränderung		dicker, saftig-weißlicher Belag	—	—	—	—
VIa	Rötung, Gasbildung, Gerinnung	Rötung, Gasbildung, Gerinnung	Rötung, Gerinnung	Rötung, Gasbildung	Gasbildg., Gerinnung		Gasbildg., Gerinnung		dgl.	—	—	—	+
VIb	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.		dgl.		„	—	—	—	+
VII	„	„	„	„	„		„		„	—	—	—	+
VIIIa	„	„	„	„	„		„		„	—	—	—	+
VIIIb	sehr schwache Rötung, keine Gasbildung, keine Gerinnung	Rötung, keine Gasbildung, Gerinnung	sehr schwache Rötung, keine Gerinnung	ohne Veränderung	ohne Veränderung	blau	ohne Veränderung	Entfärbung	dicker, saftig-weißlicher Belag	—	+	—	+
VIIIc	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	Gerinnung	dgl.	dgl.	dgl.	—	—	—	+

starke Alkalibildner waren. Sie trübten Lackmusmolke und färbten dieselbe schon nach 24—48 Stunden tiefblau. In bezug auf die Gärung der verschiedenen Zuckerarten unterschieden sich diese Bakterien untereinander dadurch, daß Stamm IVb weder Trauben- noch Milch- noch Mannitzucker mit Gasbildung vergärte. Stamm VII vergärte nur Traubenzucker und die Stämme V und XII Trauben- und Mannitzucker. Stamm VII hatte dabei die interessante Eigentümlichkeit, daß er in Mannitagar-Strichkultur eine starke Reduktion zeigte. Der Agar wurde in den untersten Schichten vollständig entfärbt, während die oberen fast unverändert blieben. Die Stämme IVb und VII verflüssigten Gelatine und bildeten kein Indol. Im Gegensatz dazu verflüssigten die Stämme V und XII Gelatine nicht, bildeten aber Indol. Es ist bemerkenswert, daß die Bakterien dieser Gruppe, obwohl sie Alkali bildeten, imstande waren, Milch zur Gerinnung zu bringen.

Die Agglutinationsversuche[1]) wurden stets mit lebenden Kulturen angestellt und die Reaktion makroskopisch beobachtet. Alle von uns isolierten Bakterien wurden durch Antiserum von Coli commune sowie durch Antiserum, das von Stamm VIIIb hergestellt worden war (siehe unten), nicht agglutiniert. Der negative Ausfall der Agglutination bestätigt die Meinung, daß die genaue Spezifizierung der Coli-Stämme mit Hilfe von Immunsera nicht möglich ist (E. Levy und Bruns, Jatta, Blumenthal und Hamm)[2]).

Die Pathogenität wurde an Mäusen untersucht. Bei der intraperitonealen Injektion von 0,2 ccm 24-stündiger Bouillonkultur starben alle Tiere innerhalb 24 Stunden. Bei subkutaner Impfung von 2 mg 24-stündiger Agarkultur zeigte sich eine etwas höhere Pathogenität für die Stämme IV und VII. Mit diesen Bakterien infizierte Tiere gingen nach 2—3 Tagen zugrunde. Die Tiere, welche mit allen übrigen Stämmen geimpft wurden, blieben am Leben.

Unter den 12 untersuchten Fällen der Kindercystitiden haben wir demnach nur zweimal (II und IX) Bacterium coli commune nachgewiesen. In den übrigen 10 Fällen wurden 3mal (I, III, VIII) Staphylokokken, 4mal alkalibildende Bakterien in Reinkultur, 1mal Alkalibildner zusammen mit „Paracoli" (IV, VI, X, XI) und 3mal „Paracoli"-Bacillen gefunden.

Wenn wir nun zur Besprechung der Ergebnisse unserer Untersuchungen der Harnflora bei Entzündungen der extrarenalen Harnwege Erwachsener übergehen, so sehen wir, daß bei letzteren Bacterium coli commune viel häufiger nachgewiesen wurde als bei Kindern. Wie aus Tab. Ib ersichtlich ist, haben wir nur im III. Falle Staphylococcus pyogeneus aureus gefunden. In allen anderen wurden kurze Stäbchen nachgewiesen, welche, wie Tabelle IIb zeigt, zu den Coli- oder „Paracolibacillen" gehören. Außerdem wurden im V. und VIII. Fall alkalibildende Bakterien gefunden, und zwar wies der V. Stamm keine Pathogenität für Mäuse auf und zeigte eine große Aehnlichkeit mit dem Bacillus faecalis alcaligenes, von dem er sich nur dadurch unterschied, daß er Milch zur Gerinnung brachte. Stamm V steht auch den alkalibildenden Bakterien sehr nahe, welche Blumenthal und Hamm[3]) aus den Faeces normaler Menschen und dem Harn

1) Agglutinationsversuche mit dem Patienten-Serum sind aus äußeren Gründen nicht angestellt worden.

2) Zitiert nach Blumenthal und Hamm l. c.

3) l. c.

erwachsener Patienten, die an Pyelonephritis gelitten, gezüchtet haben. Die aus dem VIII. Fall (VIIIb) isolierten alkalibildenden Bakterien waren pathogen, bildeten kein Indol und vergärten keine der verschiedenen Zuckerarten.

Was die zu „Paracoli"-Gruppe gehörigen Bacillen anlangt, die wir aus dem Harn erwachsener Patienten isoliert haben, so kommen auch hier, wie das aus Tabelle IIb ersichtlich ist, alle mögliche Varietäten vor. So wurden z. B. im II. Fall zwei verschiedene Bakterien gefunden, von denen der eine (IIa) ein atypisches Wachstum der Bacillen auf Endo-Platten zeigte, Milchzucker nicht vergärte und Lackmusmolke schwach rot färbte. Die „Paracoli"-Stämme des IV. Falles waren auf der Endo-Platte farblos, vergärten keinen Zucker, bildeten kein Indol und brachten Milch nicht zur Gerinnung, ließen sich aber mit Typhusantiserum nicht agglutinieren. Die Stämme VIa und VII unterschieden sich von dem typischen Coli commune nur dadurch, daß sie kein Indol bildeten. Im VIII. Fall haben wir zwei Paracolistämme isoliert: Stamm a zeigte atypisches Wachstum auf Endo-Platten, Stamm c vergor keinen Zucker und bildete kein Indol.

Die Agglutinationsreaktion der isolierten Bakterien haben wir mit Sera vorgenommen: das erste wurde mit Bacterium coli commune (Reinkultur der Sammlung) und das zweite mit Stamm VIIIb bereitet. Aus einer ganzen Reihe von Untersuchungen ging hervor, daß alle unsere Bakterien durch diese Sera nicht agglutiniert werden.

Hinsichtlich der Pathogenität konnte kein großer Unterschied zwischen den einzelnen Stämmen nachgewiesen werden. So sind z. B. alle Mäuse nach subkutaner Impfung von 2 mg 24-stündiger Agarkultur am Leben geblieben, bei intraperitonealer Einverleibung aber von 0,2 ccm 24-stündiger Bouillonkultur gingen alle Tiere außer denen, die mit Stamm V geimpft worden waren, innerhalb 48 Stunden zugrunde.

Wir haben also unter 8 Fällen von Erkrankungen der extrarenalen Harnwege bei Erwachsenen in einem Falle (Fall I) Bacterium coli commune in Reinkultur, in 3 Fällen (II, IV, VI) „Paracoli" und Coli nebeneinander, in einem Fall (V) alkalibildende Bakterien, in einem Falle (VII) Paracoli in Reinkultur und in einem (VIII) Paracoli und alkalibildende Bakterien nebeneinander nachgewiesen. Somit lag in 6 Fällen Coli- oder Coli- und Paracoli-Infektion gleichzeitig vor.

Aus allen kulturellen und biologischen Beobachtungen geht hervor, daß in der Mehrzahl der Erkrankungen der extrarenalen Harnwege der von uns untersuchten Erwachsenen im Harn Bacterium coli commune mit den verschiedensten Arten von „Paracolibacillen" zusammen nachgewiesen werden konnten. Bei den von uns beobachteten Fällen von Cystitiden im Kindesalter wurde Bacterium coli commune etwas seltener beobachtet und es überwog „Paracoli", die von dem von Escherich beschriebenen Typus mehr oder weniger abweichen. Interessant sind bei unseren Kindercystitiden die oben beschriebenen alkalibildenden Bakterien, welche sich von Bacterium coli commune durch ihre kulturellen Eigenschaften scharf unterscheiden. Es ist bemerkenswert, daß die alkalibildenden Blasenbakterien in Reinkultur im Harn gerade bei besonders schwer verlaufenden Kindercystitiden nachgewiesen wurden. So hatte z. B. im Falle VII die Krankheit einen typhusähnlichen Verlauf, im Falle V kam das Kind nach einigen Tagen zum Exitus. Höchst wahrscheinlich stammen die alkalibildenden Blasenbakterien ursprünglich aus der Darmflora. Auf hämatogenem, lympho-

genem oder urethralem Wege gelangen sie ins harnableitende System, wo sie unter dem Einfluß der neuen Lebensbedingungen ihre Eigenschaften verändern.

Es besteht aber kein Zweifel, daß auch bei rein colibacillären Infekten besonders im Kindesalter hartnäckige, chronisch-rezidivierende Entzündungen der extrarenalen Harnwege vorkommen, welche manchmal zu schweren Ernährungsstörungen führen und jede Ernährungstherapie machtlos machen.

Was den Infektionsweg bei Erkrankungen der extrarenalen Harnwege anbelangt, so sind bekanntlich 3 Möglichkeiten angegeben worden. Entweder kommen die Bakterien ins harnableitende System auf hämatogenem oder urethralem Wege, oder sie können von dem Darm aus direkt durch die Blasenwand hindurch eindringen. In der letzten Zeit wurde von Thiemich auf Grund seiner pathologisch-anatomischen Beobachtungen die besondere Bedeutung des hämatogenen Infektionsweges für Entstehung der Erkrankungen der extrarenalen Harnwege betont. Bei unseren Beobachtungen können wir auch in zwei Fällen den urethralen Weg ausschließen. In diesen Fällen handelte es sich um Knaben, welche plötzlich mit Fieber und Blasenerscheinungen erkrankten, ohne vorher an Durchfällen gelitten zu haben, und in deren Harn „Paracolibacillen" nachgewiesen wurden. Obwohl wir somit die Bedeutung des hämatogenen Infektionsweges in gewissen Fällen zugeben wollen, glauben wir doch, daß er nicht der einzig mögliche ist, da damit die Häufigkeit der Cystitis bei Mädchen, die wir auch in unseren Fällen so deutlich beobachten konnten, nicht erklärlich wäre.

Schlußfolgerung.

1) Bei Entzündung der extrarenalen Harnwege bei Kindern und Erwachsenen finden sich die verschiedensten Mikroorganismen. Bacterium coli commune kommt dabei seltener vor, als allgemein angenommen wird.

2) Im Harn von 4 (unter 12) cystitiskranken Kindern wurden besondere alkalibildende Bakterien, die unter sich Verschiedenheiten zeigen, nachgewiesen.

3) Bacterium coli commune (Escherich) fand sich in den von uns beobachteten Fällen der Erkrankungen des harnableitenden Systems bei Erwachsenen etwas häufiger als bei Kindern.

4) Die Diagnose der „Coli"-Cystitis kann nur nach vorhergehender genauer bakteriologischer Untersuchung gestellt werden.

Krankengeschichten.

A. Kinder.

Fall I. Johanna D., 14 Jahre.

Diagnosis: Cystitis.

Frühere Krankheiten: Masern (3 Jahre), Scharlach (3 Jahre), Erysipelas (13 Jahre). Die Krankheit besteht seit 2 Jahren und soll nach starker Erkältung aufgetreten sein. Das Kind fieberte und klagte über Schmerzen in der Gegend der Harnblase. Häufiger Harndrang. Das Fieber dauerte ungefähr 1 Woche. Die Symptome von Seiten der Harnblase bestehen noch heute.

Patientin ist ein stark abgemagertes blasses Kind. Die Schleimhäute sind blutarm. Lungen und Herz ohne Befund. Appetitlosigkeit, kein Fieber. Schmerzempfindung bei der Palpation in der Gegend der Harnblase. Die Sehnenreflexe sind etwas erhöht.

Das Kind uriniert fast jede halbe Stunde. Urinlassen schmerzlos. Der Harn ist trüb, zuweilen blutig, enthält Eiweiß. Sediment besteht aus einer großen Menge von Leukocyten, einzelnen roten Blutkörperchen und Epithelzellen. Bakteriurie. Durch urologische Untersuchung wurde ein Geschwür in der Nähe des Ureters festgestellt. Im steril entnommenen Harn wurde Staphylococcus pyogenes aureus gefunden.

Fall II. Marie W., $4^1/_2$ Monate alt.

Diagnosis: Ernährungsstörung, Cystitis.

Das Kind gesund geboren, wurde im Laufe der ersten 9 Tage an der Brust ernährt. Später künstliche Ernährung ($^1/_2$ Milch, $^1/_2$ Haferschleim), Körpergewicht 3590 g. Das Kind ist stark abgemagert, graublaß. Turgor herabgesetzt. Oedem an den unteren Extremitäten. Die Bauchdecken sind dünn und eingesunken. Fieber 39°. Das Kind ist sehr unruhig, weint viel. Durchfall (7 Stühle). Herz, Lunge ohne Befund, Milz nicht palpabel.

Urin alkalisch, reichlich Leukocyten, sehr viel Bakterien, einzelne Epithelien, fre von Eiweiß und Zucker.

Das Kind wurde in der Klinik während 5 Monaten beobachtet. Im 1. Monat bekam es Eiweißmilch, später Brei, Buttermilch, Griesbrühe und Gemüse. Einige Tage nach der Aufnahme verschwand das Oedem. Die Erscheinungen seitens des Darmtraktus bestanden während der ganzen Zeit, wechselnd in der Intensität, trotz gleicher Ernährung. Die Temperatur stieg periodisch bis 39°, um dann wieder in lang dauernde subfebrile oder normale Temperatur überzugehen. Das Kind hat sich schlecht entwickelt und wurde mit einem Gewicht von 5350 g entlassen. Zwischen Darm- und Blasenerscheinungen wurde ein gewisser Parallelismus beobachtet. Verschlimmerte sich der Durchfall, so verstärkten sich die Blasensymptome.

Aus steril aufgefangenem Harn wurden kurze Stäbchen isoliert (Fall II der Tabelle II a).

Fall III. Mathilde B., 17 Monate alt.

Diagnosis: Cystitis, Masern, Tuberkulose.

Das Kind normal geboren, war bis zum 1. Jahr gesund. Mit 11 Monaten lernte es laufen, dann traten bei ihm nach Angaben der Mutter Blutgeschwüre auf, die einige Monate bestanden. 3 Tage vor der Aufnahme erkrankte das Kind mit Fieber, Schnupfen und Ausschlag.

Stark abgemagertes, blasses Kind, Körpergewicht 7050 g. In der rechten Lungenspitze hoher kurzer Schall. Bronchialatmung. In beiden Lungen diffuse Bronchitis. Herz sowie die Bauchorgane ohne Befund. Am Gesicht und Körper typisches Masernexanthem. Koplik. Im Urin Eiweiß, keine Zylinder. Pyurie. Bakteriurie. Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung s. Tabelle I a. (Staphyloc. pyogenes albus.)

Fall IV. Viktor R., 18 Monate alt.

Diagnosis: Cystitis, Scarlatina.

Das Kind wurde bis 15 Monate mit Brust ernährt, später gemischte Kost. 2 Tage vor der Aufnahme erkrankte es an Fieber und Erbrechen.

Blasser, pastöser Knabe mit sehr schlaffem Fettpolster und Muskulatur. Am Rumpf und an den Extremitäten kleinfleckiges Scharlachexanthem. Fieber 39°. Lunge, Herz sowie die Abdominalorgane ohne Befund. Vom 3. Tage an verschwand das Exanthem. Am 5. Tage war der Rachen nicht mehr gerötet, kein Fieber mehr, kein Durchfall. In den nächsten 2 Wochen fühlte sich das Kind relativ wohl, im Laufe der 3. Woche aber stieg die Temperatur bis 38,4°, vermehrter Stuhl (3—4, geformt), und gleichzeitig wurde der Urin trüb. Im Sediment wurden zahlreiche Leukocyten und Bakterien gefunden. Urin hat saure Reaktion, enthält Eiweiß, kein Zucker. Aus dem steril entnommenen Harn wurden 2 Stämme (Stamm IV a und b in Tabelle II a) isoliert. Der weitere Verlauf der Krankheit war ohne Komplikation, nur ein einmaliger Anstieg der Temperatur bis 39° wurde beobachtet.

Fall V. Friedrich T., 2 Monate alt.

Diagnose: Ernährungsstörung, Otitis, Cystitis.

Das Kind stammt aus tuberkulöser Familie, wurde normal geboren und von Anfang an künstlich ernährt (Milch-Mehl). Einige Tage vor der Aufnahme in die Klinik acquirierte es einen Durchfall und hat stark abgenommen. Körpergewicht 3120 g.

Stark abgemagertes Kind, sieht blaß aus. Hypertonie, Fettpolster gering. Schnupfen. Herz, Lunge ohne Befund. Urin sehr trüb, enthält Eiweiß, spärliche hyaline Zylinder und massenhaft Leukocyten. Bakteriurie, schwach sauer.

Das Kind wurde mit Molke, Milchwasser und Brust ernährt. Der Durchfall hörte dabei auf, die Eiweißausscheidung verringerte sich bis auf Spuren. Der Urin wurde klar. Dieser Zustand dauerte 10 Tage, als auf einmal ohne irgendwelche Veränderung in der Ernährung starker Durchfall eintrat und gleichzeitig die Erscheinungen der Cystitis und Albuminurie sich verschlimmerten. Dabei kein Fieber. Das Kind stürzte im Gewicht rapide ab und ging nach einigen Tagen zugrunde.

Der Urin wurde aus der Blase mit dem Katheter 4 Tage vor dem Tode steril für die bakteriologische Untersuchung genommen. Die Ergebnisse dieser Untersuchung s. Tabelle II a (Stamm V).

Fall VI. Luise S., 8 Jahre alt.

Diagnosis: Cystitis.

Frühere Krankheiten: Pneumonie (6 Jahre), Masern, Varizellen. Blasses Mädchen mit gut entwickeltem Fettpolster. Körpergewicht 2380 g. Appetitlosigkeit. Lunge und Herz ohne Befund. Kein Durchfall. Die Sehnenreflexe sind erhöht. Facialisphänomen, Imbezillität. Fieber 38,5°. Das Kind uriniert sehr häufig. Der Harn ist trüb, enthält Eiweiß. Das reichliche Sediment besteht aus einer großen Zahl von Leukocyten, einzelne Epithelzelllen, Bakterien und Kristall, oxalsaures Calcium. Der Urin hat amphotere Reaktion. Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung s. Tabelle II a (Stamm VI).

Fall VII. Georgette H., 9 Jahre.

Diagnosis: Cystitis.

Frühere Krankheiten: Röteln, die Mutter des Kindes hat einen Herzfehler, das Kind wurde von Anfang an künstlich ernährt. Früher nie krank gewesen. In letzter Zeit klagt es über Kopfschmerzen. Die jetzige Krankheit begann mit Erbrechen und Durchfall.

Zartes blasses Mädchen, die Haut ist etwas gelblich gefärbt, das Kind stark abgemagert, etwas benommen. Trockene Lippen, Zunge belegt, frequente Atmung, Fieber 40°, eingesunkene Bauchdecken, Schmerzen in Rücken und Beinen. Herz und Lunge ohne Befund, Milz nicht vergrößert. Urin ist trüb. Im Sediment reichlich Leukocyten und Bakterien. Alkalische Reaktion, kein Eiweiß und Zucker. Diazoreaktion sowie die Typhusagglutination negativ.

Am 4. Tage seines Aufenthaltes in der Klinik wurde der Harn steril entnommen und zur bakteriologischen Untersuchung gebracht. Aus diesem wurde ein alkalibildender Stamm gezüchtet (Tabelle II a, Stamm VII).

Der fieberhafte Zustand dauerte 13 Tage an, dann fiel die Temperatur auf normal ab und wurde alle 4—10 Tage von einer 1—2-tägigen Temperatursteigerung bis 39° unterbrochen. Mit der Zeit werden diese Temperaturerhöhungen immer seltener, und das Kind wurde fieberfrei und mit sterilem Urin entlassen.

Fall VIII. Elsa B., 8 Jahre alt.

Diagnosis: Cystitis, Neuropathie.

Das Kind stammt aus neuropathischer Familie. Seit 3 Monaten leidet es an heftigem Harndrang und Schmerzen in der Gegend der rechten Niere. Appetitlosigkeit.

Patientin ist ein normal entwickeltes Kind. Die Haut sowie die Schleimhäute sind blaß, Zunge belegt, Herz und Lunge ohne Befund. Bei Palpation erhöhte Empfindlichkeit in der Gegend der Blase, kein Fieber. Der Urin ist trüb, im Sediment wenig Leukocyten, vereinzelte Epithelzellen. Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung s. Tabelle II a. (Stapyloc. pyogenes albus.)

Fall IX. Josefine O., 8 Jahre.

Diagnosis: Cystitis.

Abgemagertes Mädchen mit schlaffer Muskulatur. Trockene blasse Haut. Zunge stark belegt, aus Mund Foetor. Fieber 39°. Lungen und Herz ohne Befund. Urin sauer, enthält Spur von Eiweiß. Das Kind uriniert sehr oft. Im Sediment massenhaft Leukocyten und Epithelzellen, keine Zylinder. Bakteriurie. Aus dem steril entnommenen Harn wurde 1 Stamm isoliert (Stamm IX in Tabelle II a).

Fall X. Anna F., 11 Jahre.

Diagnosis: Scarlatina, Cystitis.

Frühere Krankheiten: Röteln (7 Jahre), Keuchhusten.

Patientin kräftiges Mädchen in gutem Ernährungszustand. Typisches Scharlachexanthem. Lymphdrüsenschwellung am Hals, Angina, Himbeerzunge. Fieber 40,3°. Herz, Lunge sowie Bauchorgane ohne Befund. Kein Durchfall. Urin ist schwach alkalisch, trüb, enthält Eiweiß. Im Sediment massenhaft Leukocyten, Epithelzellen, Bakterien. Keine Zylinder. Der Harn wurde steril entnommen und bakteriologisch untersucht (s. Tabelle II a, Stamm X). Der weitere Verlauf des Scharlach war ohne Komplikation.

Fall XI. Gilbert E., 9 Monate.

Diagnose: Pyelocystitis.

Das Kind stammt aus gesunder Familie; 5 Monate bekam es Frauenmilch, später Milch-Kufekemilch. Vor 2 Monaten erkrankte das Kind mit Erbrechen ohne Durchfall, hohem Fieber (40°) und Benommenheit. Seitdem hat es sich nicht erholt. Das Kind sieht sehr blaß aus. Turgor ist stark herabgesetzt. Lunge und Herz ohne Befund. Fieber 38,2°. Das Kind uriniert sehr oft. Der Harn ist trüb, Sediment enthält viel Leukocyten und Bakterien, keine Zylindrurie, keine Albuminurie. Aus dem Harn wurde 1 Stamm isoliert (Stamm XI in Tabelle II a).

Fall XII. Das Kind U.

Das Kind erkrankte plötzlich mit Fieber, welches 14 Tage dauerte. Lokale Beschwerden gering. Urin trüb, enthielt anfangs etwas Eiweiß. Aus dem Urin wurden kurze Stäbchen isoliert (s. Tabelle II a, Stamm XII).

B. Erwachsene.

Fall I. Hans O., 40-jähriger Mann.

Diagnosis: chronische doppelseitige Pyelitis.

Seit 5 Jahren leidet Kranker an periodischen Attacken von hochgradigen Schmerzen in der Nierengegend, welche sich alle 3—4 Monate wiederholen und von hohem Fieber begleitet sind. Durch urologische Untersuchung wurde doppelseitige Pyelitis festgestellt. Der Urin enthielt viel Eiter und Bakterien. Aus dem steril entnommenen Harn wurde 1 Stamm isoliert (Stamm I in Tabelle II b).

Fall II. Walter, 42-jährige Frau.

Diagnosis: akute doppelseitige Pyelitis.

Patientin ist seit einigen Wochen krank. Die Krankheit begann mit Schüttelfrost und starken Schmerzen in der Nierengegend. Hohes Fieber. Seit der Zeit dauern Schmerzen und Fieber an. Im Harn viel Eiter und Bakterien. In dem durch Ureterkatheterisation entnommenen Harn beider Nieren fand sich Eiter und Bakterien. Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung s. Tabelle II b (Stamm II).

Fall III. Kollmann, 30-jähriger Mann.

Diagnosis: rechtsseitige Pyonephritis, Perinephritis.

Seit einigen Jahren krank. In der rechten Nierengegend heftige Schmerzen. Fieber. Pyurie. Bakteriurie. Während seines Aufenthaltes in der chirurgischen Universitätsklinik wurden Perinephritis und kleine subkortikale Abszesse in der rechten Niere festgestellt. Die linke Niere scheint intakt gewesen zu sein. Die bakteriologische Untersuchung des Harnes s. Tabelle II b (Stamm III, Staphylococcus pyogenes aureus.

Fall IV. W., 26-jähriges Fräulein.

Diagnosis: chronische Cystitis.

Patientin klagt über heftigen Harndrang und Schmerz in der rechten Nierengegend. Kein Fieber. Der Harn enthielt massenhaft Leukocyten und einzelne Epithelzellen. Bakteriurie. Bei der urologischen Untersuchung wurde Blasenentzündung festgestellt. Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung s. Tabelle II b (Stamm IV a und b).

Fall V. Sittner, 56-jährige Frau.

Diagnosis: doppelseitige Nephrolithiasis.

Seit einigen Jahren leidet die Patientin an starken Schmerzen in der Nierengegend. Im Harn, der durch Ureterkatheterisation entnommen wurde, fanden sich Eiter und große Mengen von Bakterien. Cystoskopie ergab keine Blasenentzündung.

Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung s. Tabelle II b (Stamm V).

Fall VI. Hemp, 26-jährige Frau.

Diagnosis: Nephrolithiasis.

Patientin hat seit einigen Monaten kolikartige Schmerzen in der Gegend der linken Niere. Zeitweise ist der Harn bluthaltig. Kein Fieber. Durch urologische Untersuchung wurde ein Stein im Becken der linken Niere gefunden. Keine Cystitis. Der aus beiden Uretern entnommene Harn wurde bakteriologisch untersucht. Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung s. Tabelle II b (Stämme VI a und b).

Fall VII. Lindemann, 50-jährige Frau.

Diagnosis: intermittierende Hydronephrose.

Seit 20 Jahren besteht intermittierende linksseitige Hydronephrose. Der Harn enthielt große Mengen von Bakterien. Keine Pyurie. Bei cystoskopischer Untersuchung keine Cystitis.

Bakteriologische Untersuchung des durch Katheterisation der Blase steril entnommenen Harnes s. Tabelle II b (Stamm VII).

Fall VIII. Elisabeth S., 28 Jahre alt.

Patientin war in die Klinik aufgenommen wegen Verdachts auf intermittierende Hydronephrose. Die urologische Untersuchung ergab einen negativen Befund. Aus dem steril entnommenen Harn wurden 3 Stämme isoliert. (Stämme VIII a, b und c in Tabelle II b.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Bordet-Gengouschen Keuchhustenbacillus.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Gesellschaft zur Bekämpfung der Infektionskrankheiten in Kiew.]

Von Dr. **L. Poleff.**

Mit 1 Tafel.

I.

Seit Bordet und Gengou (1) ihre Entdeckung des Keuchhustenerregers veröffentlicht haben, entstand eine ganze Reihe von Untersuchungen, die dem Studium der Natur des entdeckten Bacillus und der Frage über seine ätiologische Bedeutung gewidmet waren.

Einige Autoren (Klimenko [2—3], Arnheim [4], Menschikofff [5]) sind zum Schlusse gelangt, daß die Spezifität des Bordet-Gengouschen Stäbchens bei Pertussis zweifellos ist. Sie begründen ihre Meinung auf folgende Tatsachen: Vorkommen des Bordet-Gengouschen Bacillus bei der Mehrzahl aller von ihnen untersuchten Keuchhustenfälle, Fehlen desselben im Sputum Gesunder, resp. nicht an Pertussis erkrankter Kinder, positive Ergebnisse des experimentellen Keuchhustens und die Immunitätsreaktionen (spez. Agglutination und Komplementbindung), welche mit dem Blutserum von Rekonvaleszenten und mit Reinkulturen des betreffenden Bacillus angestellt worden sind. Während die anderen Forscher (C. Fraenkel [6], Seiffert [7]), trotz der bedeutungsvollen experimentellen und serologischen Resultate ihrer Untersuchungen — Fraenkel hat durch Zerstäubung von Reinkultur des Bordet-Gengouschen Bacillus Affen angesteckt und bei ihnen einen 10—12 Tage andauernden, bellenden, pertussisähnlichen Husten beobachtet, und Seiffert hat eine Reihe von Immunitätsreaktionen mit einem deutlich positiven Resultat angestellt — trotzdem verhalten sich die beiden genannten Autoren etwas mehr zurückhaltend der Frage von der ätiologischen Bedeutung des Bordet-Gengouschen Mikroorganismus gegenüber. Sie meinen, daß diese Frage noch nicht genügend aufgeklärt ist, um die Akten über sie als geschlossen zu betrachten.

Die Arbeiten von Fränkel und Seiffert reichen bis zum Jahre 1909; seit dieser Zeit wurde die Frage über die ätiologische Rolle des neuen Keuchhustenerregers bedeutend weiter durchgearbeitet und liegt gegenwärtig folgendermaßen:

Bezüglich der Isolierung von Reinkulturen des Bordet-Gengouschen Bacillus bei Pertussis aus dem Auswurf und Sektionsmaterial habe ich die Ergebnisse der mir zugänglichen Literatur in Tabelle I zusammengestellt:

Tabelle 1.

Autor	Untersuchungsmaterial	Gesamtzahl der Fälle	Zahl der isolierten Reinkulturen
Soulima (8)	Sputum	—	17
Klimenko (2)	„	76	5
„ (9)	Pneumon. Herde in Lungen u. Blut	3	1
Fraenkel	Sputum	38	8
Arnheim	„	20	6
„	Sektionsmaterial	5	0
Seiffert	Sputum	16	12
„	Lunge, Bronchialdrüsen, Leber, Blut	1	1
Wollstein (10)	Sputum	30	29
Menschikoff	„	94	93
Bächer u. Menschikoff (11)	„	—	3
Odaira (12)	„	35	6
„	Trachealsekret, Lunge	7	2

Was nun die Reinzüchtung selbst anbetrifft, so stimmt die Mehrzahl der Autoren in einem Punkte überein, und zwar: Es gelingt, das Stäbchen am leichtesten in frischen Keuchhustenfällen aus dem Sputum zu isolieren; dasselbe findet sich in derartigen Fällen fast in Reinkultur, nimmt an Zahl im Laufe der Krankheit ab und verschwindet ganz gegen das Ende hin. Im Zusammenhang mit dieser Tatsache, die zuerst von Bordet u. Gengou hervorgehoben wurde, haben diese Autoren ihre Theorie über die Pathogenese des Keuchhustens aufgebaut. Danach werden die Keuchhustenanfälle auf die fortdauernde Lokalwirkung eines nekrotisierenden Endotoxins, das bei der Bakteriolyse der Keime in den oberen Luftwegen, speziell im Larynx, frei wird, zurückgeführt. Bordet und Gengou (13) haben aus ihren Stäbchen ein in der Tat sehr giftiges Endotoxin in Trockensubstanz dargestellt; zwar konnten Bächer und Menschikoff ihrerseits keinen so giftigen Stoff gewinnen, doch wird damit noch kein Beweis gegen die recht scharfsinnige Hypothese von Bordet und Gengou erbracht.

Es gelingt also, in Frühstadien des Keuchhustens den Mikroorganismus Bordet-Gengou in Reinkultur zu isolieren; Menschikoff vermochte das selbst in Spätstadien, d. h. in jeder Zeitperiode der Krankheit, zu machen. Das Stäbchen bakterioskopisch im Ausstrichpräparat vom Keuchhustensputum nachzuweisen, ist in 80 und mehr Proz. aller zu untersuchenden Fälle möglich (Klimenko). In Präparaten mit Karboltoluidinblau oder Karbolfuchsin gefärbt, erscheint der Mikroorganismus als ein kleines, bipolares Stäbchen mit eiförmig abgerundeten Enden, das sich etwas ins Bläuliche mit Lilarot, in Vergleich mit anderen Bakterien und Leukocyten, färben läßt. Die Polfärbung tritt besonders deutlich hervor, wenn die Fixierung in Methylspiritus (nicht durch Flamme) vorgenommen wird (Menschikoff). Der Bacillus bietet demnach ein so eigenartiges Aeußeres dar, daß Klimenko demselben eine differentialdiagnostische Bedeutung zuzuschreiben geneigt ist. Es gelingt, das Bordet-Gengousche Stäbchen nur auf den spezifischen Blutnährboden zu isolieren. Menschikoff empfiehlt den Hämoglobinagar, dessen Vorteile darin bestehen sollen, daß seine Durchsichtigkeit die Isolierung von kleinen, anfangs kaum sichtbaren Kolonien des Mikroorganismus erleichtert.

Die Morphologie und Biologie des Bordet-Gengouschen Bacillus ist von den Autoren (14) selbst sowie von Klimenko (15) ausführlich studiert und beschrieben worden; an dieser Stelle möchte ich nur eine Eigenschaft dieses Mikroorganismus hervorheben; er ist nämlich im Anfang sehr anspruchsvoll in bezug auf die Nährböden, gewöhnt sich aber im Laufe der Zeit an die gebräuchlichen Laboratoriumsnährböden und wird nach einer Tierpassage auf einfachem Agar leicht isolierbar (Klimenko). Fraenkel, Menschikoff und Soulima konnten bei ihren Stämmen kein Wachstum auf hämoglobinfreien Nährböden erzielen; dagegen bestätigt Odaira die Beobachtung von Klimenko, indem er berichtet, daß die von ihm isolierten Bacillen Bordet-Gengou nach einigen Generationen schon auf einfachem Agar ein üppiges Wachstum gegeben haben, in Gegensatz zum Influenzabacillus, der ohne Blut nicht fortkam. In den Arbeiten von Bordet (16—17), Bordet et Sleeswyk (18) findet sich auch der Beweis, daß der Keuchhustenbacillus auf gewöhnlichem Agar zwar ein mehr langsames Wachstum zeigen kann. Dieser Umstand, d. h. die sich zeigende Fähigkeit des Bordet-Gengouschen Mikroorganismus, auf den gewöhnlichen Nährböden fortzukommen, legt den Gedanken nahe, daß die Polbakterien, welche früher von anderen Autoren, z. B. von Czaplewski u. Hensel (19—21) und Reyher (22—23), bei Keuchhusten beschrieben worden waren, und „le microbe de la coqueluche" von Bordet-Gengou ein und dasselbe Bakterium darstellen. Denn der Unterschied zwischen diesen beiden Bakteriengruppen, von der obligaten Hämoglobinophilität abgesehen, besteht nur darin, daß für den Bordet-Gengouschen Bacillus im Serum von Keuchhustenrekonvaleszenten spezifische Antikörper nachgewiesen wurden, während Czaplewski und Reyher von den Immunitätsreaktionen mit ihren Bakterien nichts erwähnen. Das war auch der Grund, warum von Bordet und Gengou (24) die Reyherschen (25) Keuchhustenstäbchen nicht anerkannt wurden.

Die Bemühungen, das Bordet-Gengousche Bakterium im Sputumausstrich von nicht-keuchhustenkranken, resp. ganz gesunden Kindern nachzuweisen, sind, soviel ich weiß, in 101 Fällen negativ ausgefallen (Klimenko [2], Menschikoff), doch beobachtete Fraenkel die gleichen Bakterien im Sputum von 2 nicht an Pertussis erkrankten Patienten. Die Zahl 101 ist zu gering, um das ausschließliche Vorkommen des betreffenden Bacillus nur bei Keuchhusten zu behaupten. Der bakterioskopische und bakteriologische Befund eines Mikroorganismus bei irgendwelcher Affektion ist aber an und für sich nicht als Beweis für

die Spezifität desselben zu verwerten. Der Bacillus von Affanassjeff (26) wurde vom Autor doch auch im Keuchhustensputum entdeckt und von Savtschenko (27) aus Keuchhustenleichen gezüchtet. Alle übrigen Vorgänger des Bordet-Gengouschen Stäbchens als Keuchhustenerreger — die Bakterien von Czaplewski u. Hensel, Jochmann u. Krause (28), Manicatide (29), Reyher u. dgl. m. — wurden im Sputum und Leichenmaterial von Keuchhustenkranken gefunden und reingezüchtet. Reyher gelang es sogar, in Schnittpräparaten vom Larynx und der Trachea das von Czaplewski beschriebene Polbakterium nachzuweisen.

Deshalb haben Bordet und Gengou das Hauptgewicht ihrer Entdeckung auf die Immunitätsreaktionen gelegt. Nachdem sie die spezifische Agglutination ihres Stäbchens durch Serum von Keuchhustenrekonvaleszenten konstatiert hatten, hat fast jeder Autor auch eine Agglutination des betreffenden Bacillus durch Serum in der Verdünnung von 1:50 (Arnheim), 1:16, 1:32 (Seiffert), 1:30, 1:50 (Menschikoff) festgestellt. Das hat so lange gedauert, bis sich herausgestellt hat, daß der Bordet-Gengousche Mikroorganismus eine Tendenz zur Spontanagglutination besitzt (Klimenko, Bächer und Menschikoff, Odaira), und daß die Anwendung dieser Reaktion beim Keuchhusten demgemäß ganz im Stiche läßt. Aus den Arbeiten von Bordet und Gengou (14 u. 17) ist ersichtlich, daß die Agglutination, da dieselbe im höchsten Grade schwankend und inkonstant bei verschiedenen Stämmen auftritt, selbst zur Differenzierung der verdächtigen Kulturen mit einem Pferdeimmunserum kaum zu benutzen ist.

Bemerkenswert scheint uns die Angabe von Manciatide über die spezifische Agglutination seines Stäbchens durch Serum von Keuchhustenkranken (1:32 in 5 Fällen).

Was nun die Komplementbindungsreaktion mit Bordet-Gengouschen Bacillen als Antigen anbelangt, so ist dieselbe von 36mal, wenn sie von verschiedenen Autoren[1]) angestellt wurde, nur 5mal positiv ausgefallen (s. Tabelle II).

Tabelle 2.

Autor	+	—	Gesamtzahl
Klimenko	1	0	1
Fraenkel	1	4	5
Seiffert	1	0	1
Menschikoff	2	0	2
Bächer und Menschikoff	0	27	27
Summe	5	31	36

In dieser Tabelle sind die Ergebnisse der Untersuchungen von Delcourt (30), welche die früheren Angaben von Bordet-Gengou (31) bestätigen, nicht eingeschlossen; dieselben sind so interessant und eigentümlich, daß sie extra besprochen werden müssen. Der Autor bekam positive Komplementbindungsreaktion nicht nur bei Kranken mit ausgesprochenen Keuchhustensymptomen, sondern auch bei Schülern, die angeblich nur an einen leichten Husten litten, und bei einigen scheinbar gesunden Lehrerinnen. Auf Grund dieser Ergebnisse nimmt Delcourt an, daß auch die leichten Formen von Keuchhusten (formes frustes), welche ohne typische Symptome dieser Krankheit verlaufen, im Organismus die Bildung von spezifischen Antikörpern bedingen, und daß die Komplementbindungsreaktion nicht nur in der Diagnose, sondern auch in der Prophylaxe der Pertussis eine Rolle spielen kann (für die Entdeckung und Isolation von Keuchhustenbacillenträgern).

Klimenko (32) ist anscheinend der Meinung, daß diese Reaktion in derartigen Fällen mit Erfolg angewendet werden kann. Unsere Tabelle erlaubt aber nicht, sich dieser Behauptung anzuschließen. Wenn eine Methode selbst in bestimmt positiven Fällen mit scharf ausgeprägten Krankheitssymptomen ein negatives Resultat zeigt, so kann dieselbe kaum als ein sicheres, feines diagnostisches Mittel betrachtet werden.

Auch diese Reaktion hat also eine relative Bedeutung für die Differenzierung von verdächtigen Bordet-Gengou-Bacillenkulturen mittels Immunsera (Pferd oder Kaninchen, die mit zweifellosen Kulturen immunisiert sind), wenn selbst in dieser Richtung nach Angaben von Odaira dieselbe als nicht ganz einwandsfrei anzusehen ist. Odaira fand, daß das Serum der mit Bordet-Gengouschen

1) Bordet und Gengou ausgenommen.

Bacillen immunisierten Kaninchen mit verschiedenen Antigenen (1. Bacillus Bordet-Gengou, 2. Bacillus Pfeifferi, 3. Bacillus haemoglobinophil. canis, 4. Bacillus meningitidis) zusammengebracht, selbst in einer Verdünnung von 1:5 Hämolysenhemmung bewirkt; nur in höheren Serumverdünnungen nimmt die Reaktion einen mehr spezifischen Charakter an. Die spezifischen Opsonine (Neisser in der Arbeit von Seiffert) gegen die Bordet-Gengouschen Bacillen und Bakteriotropine (Bächer und Menschikoff) sind noch nicht genügend erforscht, um in Betracht gezogen werden zu können.

Wenden wir uns jetzt dem experimentell mit Bordet-Gengouschen Bacillen erzeugten Keuchhusten zu, so sind zunächst die Arbeiten von Fraenkel und Klimenko zu erwähnen. Ueber die Experimente des ersteren wurde schon oben berichtet: Fraenkel beobachtete innerhalb 10 Tagen einen pertussisähnlichen Husten bei den mit dem Bordet-Gengouschen Bacillus geimpften Affen. Leider fehlen in dieser interessanten Arbeit Angaben über die bakteriologische Untersuchung der erkrankten Tiere, weswegen der direkte Zusammenhang der Erkrankung mit der künstlichen Infektion unerwiesen bleibt. Klimenko experimentierte mit verschiedenen jungen Tieren (Kaninchen, Meerschweinchen, Ferkeln, Hündchen) und mit erwachsenen Affen. Kaninchen und Meerschweinchen fand er gegen Pertussis unempfänglich, während bei jungen Hunden und Affen ihm „künstlich den Keuchhusten" hervorzurufen gelungen ist. Dabei erinnerte das beobachtete Krankheitsbild, nach Angaben von Klimenko, in hohem Maße an den menschlichen Keuchhusten. Jederzeit wurden im Laufe der Krankheit die Bordet-Gengouschen Bacillen im Nasen- und Rachenschleim bei kranken Hündchen nachgewiesen und bei der Sektion einiger zugrunde gegangener Tiere aus den pneumonischen Lungenherden, sowie aus Tracheal- und Larynxsekret reingezüchtet. In 2 Fällen wurde von Klimenko mit Serum dieser keuchhustenkranken Hunde die Komplementbindungsreaktion, welche ein deutlich positives Resultat zeigte, angestellt. Von 48 jungen Hunden wurden 20 mit Reinkultur von Bacillus Bordet-Gengou in Nase und Larynx geimpft; 28 haben sich selbst angesteckt, wobei sich eine außerordentliche Empfänglichkeit der Hündchen für die Affektion herausstellte; die Ansteckung geschah schon durch den Aufenthalt in dem Raume, wo sich die kranken Tiere früher befanden; sie wurde von einer Hündin, welche mit Müttern kranker Hündchen, z. B. gelegentlich eines Spazierganges in Berührung kam, vermittelt.

Was nun die Erkrankung der Affen anbetrifft, so hat dieselbe nicht so ausgesprochen der menschlichen Pertussis geglichen; doch glaubt Klimenko in den Reinkulturen von Bacillus Bordet-Gengou, welche er aus dem Rachensekret von 5 erkrankten, sowie aus Larynx, Trachea und Lungen eines eingegangenen Affen herauszüchtete, den kausalen Zusammenhang zwischen der Erkrankung der Tiere und der Infektion derselben mit Bordet-Gengouschem Bakterium bewiesen zu haben.

Die angeführten Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen des Keuchhustens stellen gewiß einen der wichtigsten Beweise für die Spezifität des Bordet-Gengouschen Mikroben bei Pertussis dar, wenn auch die Bedeutung aller experimentellen Erkrankungen angesichts ihrer Spezifität nicht überschätzt werden darf. Wir wissen doch aus der Literatur, daß Mikroorganismen, die früher als Keuchhustenerreger angesprochen worden sind, in demselben Maße für Tiere pathogen waren. So erzeugte Affanassieff bei jungen Hunden einen angeblich pertussisähnlichen Husten, nachdem er sie mit seinem beweglichen endosporogenen Keuchhustenstäbchen infiziert hatte. Manicatide beschreibt den „Keuchhusten" bei Meerschweinchen nach einer Impfung mit Kulturen von Bacillus Z des Autors, sowie bei Schafen, wo er infolge von subkutaner Injektion desselben Stäbchens entstanden war; selbst das Filtrat von Keuchhustensputum durch die Berkefeld-Kerze sei nach Angaben von Casagrandi (33) imstande, bei jungen Hunden eine typische, selbst für Kinder infektiöse, Pertussis hervorzurufen.

Fassen wir jetzt alles oben Dargelegte nochmals kurz zusammen, so bemerken wir, daß das Studium der Literatur über den Bordet-Gengouschen Bacillus uns die feste Ueberzeugung, daß derselbe in der Tat ein echter Keuchhustenerreger ist, nicht verschaffen kann.

Die gleiche Meinung wird auch von Kolle und Hetsch in ihrem bekannten Lehrbuch (1911), sowie von Haller in der russischen Auflage von Günthers Bakteriologie vertreten; die Autoren sprechen sich in dem Sinne aus, daß die Frage über die Spezifität des Bordet-Gengouschen Keuchhustenbacillus immer noch nicht spruchreif ist.

Diese Auffassung wurde kürzlich wieder durch Untersuchungen von Odaira bestätigt. In 42 Keuchhustenfällen hat der Autor nur 8mal bipolare Kurzstäbchen

nachgewiesen; in allen übrigen Fällen fand er nur Influenzabacillen, Sarcinen, Diplokokken, Micrococcus catarrhalis etc. Auf Grund seiner Befunde erklärt Odaira den Keuchhusten nicht für eine ätiologisch einheitliche Krankheit, sondern für einen Symptomenkomplex, welcher durch verschiedene Infektionen, unter Umständen auch durch Infektion mit Bordet-Gengouschen Mikroben, zustande gebracht werden kann. Diese Arbeit spricht also nicht zugunsten des Bordet-Gengouschen Keuchhustenbacillus; ich bin aber mit den Schlußfolgerungen des Autors nicht ganz einverstanden. Wenn Odaira bei 36 Keuchhustenfällen Sarcinen, Streptokokken etc. gefunden hat, so genügt das noch nicht, um die betreffenden Bakterien in einen direkten kausalen Zusammenhang mit den spezifischen Krankheitssymptomen zu bringen; speziell gegen die Theorie von der Pathogenese des Keuchhustens von Bordet und Gengou wird durch den negativen Ausfall der Untersuchungen von Odaira kein Beweis geliefert, da die Mehrzahl der Fälle, in welchen Odaira die Bordet-Gengouschen Bacillen nicht entdecken konnte, zu den Spätstadien der Krankheit gehören, in welchen diese Stäbchen bekanntlich ganz zu verschwinden pflegen. Im Gegensatz zu Kolle-Hetsch und Haller wird in russischen Lehrbüchern der Bakteriologie (Metschnikoff und Tarassewitsch, Rosenthal) die Spezifität des Keuchhustenbacillus von Bordet-Gengou für völlig bewiesen erklärt.

Diese Ansichtsdifferenzen bestehen in der Literatur noch zurzeit, und die letzte Arbeit von Klimenko (34), in welcher über die guten Resultate der Serotherapie des Keuchhustens (mit Bordet-Gengouschem Pferdeimmunserum) berichtet wird, ist auch nicht imstande, das Problem sicher aufzuklären. Manicatide hat doch auch sein Immunserum bei 81 Keuchhustenkranken mit Erfolg angewendet. Die widersprechenden Resultate der Versuche mit der Vaccintherapie der Pertussis (Bächer und Menschikoff, Freeman[1]) geben uns gleichfalls kein Recht, die Spezifität des Bordet-Gengouschen Keuchhustenstäbchens zu verneinen.

Ich halte mich demnach für berechtigt, die Resultate meiner eigenen Untersuchungen zur Frage über den Bordet-Gengouschen Bacillus an dieser Stelle mitzuteilen.

II.

Anfänglich hatte ich nur einen Stamm des Bordet-Gengouschen Bacillus zur Verfügung, nämlich eine alte Agarkultur, die im Jahre 1910 von Klimenko erhalten worden war. Der zweite Stamm wurde uns von Bordet selbst im März vorigen Jahres freundlichst übersendet. Bezüglich des ersteren, den ich im weiteren kurz mit A (alt) bezeichnen werde, habe ich ein interessantes Zeichen einer beträchtlichen Lebensfähigkeit der betreffenden Bakterien zu notieren. Die Agarkultur des Stäbchens wurde nämlich anfangs monatlich auf den frischen Nährboden überimpft; dann blieb sie eine Zeitlang ohne Ueberimpfung, nachdem sie im Oktober 1911 zum letztenmal überzogen worden war. Als ich nun am 26. Januar 1912 ein Ausstrichpräparat von der alten Kultur angefertigt hatte, bemerkte ich, daß das Stäbchen vollständig entartet war; es waren unter dem Mikroskop nur Involutionsformen in Form von unregelmäßigen Fäden und körnigen Zerfalls. Die Fortpflanzungsenergie war aber beim Bacillus nicht verloren gegangen; auf frischen Agar übersät, zeigte er am nächsten Tage ein üppiges Wachstum, welches etwas an Typhusrasen erinnerte; das mikroskopische Bild des Ausstrichpräparates glich aber dem vorigen noch. Nach einer Meerschweinchenpassage zeigten die Stäbchen schon eine Tendenz zur Regeneration; unter den vorwiegenden Involutionsformen konnte man auch einzelne typische, bipolare Stäbchen bemerken. Diese Regeneration wurde begünstigt, als ich die Bakterien auf dem spezifischen Kartoffel-Glyzerin-Blutagar von Bordet-Gengou weiterzuzüchten begann. Die Menge der typischen Bacillenexemplare vermehrte sich in den Präparaten

1) Zit. nach Bächer und Menschikoff.

nach jeder Tierpassage und mit jeder Uebersaat auf frischen Nährboden. Schließlich (nach 9 Tierpassagen) zeigten unsere Stäbchen ihre ursprüngliche Form wieder und waren von den Abbildungen in der Arbeit von Klimenko (15) durch nichts zu unterscheiden. Es hat sich herausgestellt, daß der Bordet-Gengousche Mikroorganismus seine Lebensfähigkeit auf Agar etwa 3 Monate lang beibehalten kann (bei Klimenko lebte derselbe nur 3—4 Wochen).

Der morphologischen Regeneration parallel stieg auch die Virulenz des Mikroorganismus; 1—2 Platinösen, Meerschweinchen und etwa $^1/_4$ Agarkultur, Kaninchen in die Bauchhöhle eingeführt, töteten jetzt die Tiere in 24 Stunden. Bei der Autopsie fand sich ein serös-hämorrhagisches Exsudat, das immer Bakterien enthielt; nicht selten entwickelte sich eine Bakteriämie, wobei die Stäbchen im Blute, in der Milz, Leber und Lunge nachzuweisen waren. Sämtliche morphologische und biologische Eigenschaften dieses Stammes entsprachen völlig den Angaben von Klimenko und zum Teil auch denjenigen anderer Autoren.

Stamm O (= Original aus Bruxelles) unterschied sich durch eine strengere Hämoglobinophilie. Er zeigte nur auf Nährböden, die mit Blut, resp. mit nicht koaguliertem Eiweiß (Serum, Ascitesflüssigkeit u. dgl.) reichlich vermischt waren, ein ansehnliches Wachstum; auf gewöhnlichem Agar war dasselbe kaum bemerkbar und sistierte nach 1—2 Generationen ganz. Die Virulenz des Stammes war bedeutend schwächer, als die des Stammes A. Erst 2—3 48-stündige Kulturen stellten für die Meerschweinchen eine tödliche Dosis dar, wobei der Inhalt der Bauchhöhle bakterioskopisch steril zu sein schien, und nur bei der Anwendung der spezifischen bluthaltigen Medien bei der Verimpfung spärliche Einzelkolonieen des Bacillus aufgingen.

Ebenso wie Stamm A, hat Stamm O zuweilen Bakteriämie bei dem betreffenden Versuchstiere hervorgerufen. In allen derartigen Fällen, und zwar in den Versuchen mit Stamm A besonders scharf ausgeprägt, konnte ich bei der Autopsie der eingegangenen Tiere die Anfüllung ihrer Gallenblase beobachten; in den Ausstrichpräparaten zeigten sich die Bordet-Gengouschen Bacillen, dieselben wurden auch reingezüchtet. Von dieser Beobachtung ausgehend, versuchte ich die Bordet-Gengouschen Stäbchen auf gallenhaltigen Nährböden (Ochsengalle, Ochsengalle und Agar āā) zu kultivieren; dabei stellte sich heraus, daß die Fortpflanzung der betreffenden Bakterien durch die Galle nicht beeinträchtigt wird.

Auf die Arbeiten über die Aggressine von Bail mich stützend, untersuchte ich das Exsudat der durch Bordet-Gengousche Bacillen getöteten Meerschweinchen auf die in ihm vorkommenden derartigen Stoffe. Das Kerzenfiltrat des Exsudats wurde in verschiedenen Mengen (bis 5 ccm) rein, sowie mit einer nicht-tödlichen Dosis der Kultur vermischt, in die Bauchhöhle einer ganzen Reihe von Meerschweinchen eingeführt. Es zeigte sich die vollständige Ungiftigkeit desselben und das Fehlen jeglicher Aggressine in ihm.

Aus den Kulturen von O habe ich ein Endotoxin zu bereiten versucht, wobei ich den Angaben der Autoren bezüglich der Methodik genau folgte, doch wurde das von mir erhaltene Produkt von den Versuchstieren in großen Dosen ohne bemerkbaren Schaden vertragen.

Zwecks Gewinnung eines eigenen Stammes wandte ich mich dem klinischen Materiale zu. Dank der Liebenswürdigkeit der Aerzte des „Krankenhauses für arme Kinder“ in Kiew habe ich Gelegenheit

Tabelle III.

No.	Alter	Diagnose	Krankheitsstadium	Bakterioskopischer Befund	Reinkultur des Bordet-Gengouschen Bacillus
1	7 Jahre	Pertussis	5. Woche	Epithel, Diplokokken, Streptokokken, Diplobacillen, kleine influenzaähnliche Stäbchen, wenig typ. Bacillen Bordet-Gengou	+
2	11 Jahre	Pertussis	2. Woche	Epithel, Kokken, Sarcinen, influenzaähnliche Stäbchen, größere Polstäbchen, kettenförmig und gruppenweise in den Epithelzellen gelegen	+
3	3 Jahre	Pertussis	5. Woche	Leukocyten, Epithel, Sarcinen, Kokken, typische Bacillen Bordet-Gengou, gruppenweise und kettenförmig angeordnet, Polfärbung verschieden stark ausgeprägt	+
4	6 Jahre	Pertussis	4. Woche	Sehr viel Leukocyten, Diplokokken, Streptokokken; Bordet-Gengousche Bacillen nicht gefunden	—
5	4 Jahre	Pertussis	5. Woche	Leukocyten, Diplokokken, Bordet-Gengousche Stäbch. in großer Menge	fast Reinkultur
6	5 Jahre	Pertussis	3. Woche	Sehr viele Stäbchen in Form von kleinen Diplobacillen, kleine influenzaähnliche Stäbchen, Bacillen Bordet-Gengou	—
7	8 Jahre	Pertussis	4. Woche	Viele Leukocyten, Diplokokken, Diplobacillen etc., influenzaähnl. Stäbchen, Bacillen Bordet-Gengou	—
8		Pertussis	8.—9. Woche	Leukocyten, Streptokokken, Diplokokken, Bordet-Gengou-ähnl. Stäbchen, kettenförmig angeordnet, Polfärbung nur bei einzelnen Exemplaren	—
9	5 Jahre	Pertussis	3. Woche	Epithel, sehr viele verschiedene Bakterien, influenzaähnliche Stäbchen, dicke Kurzstäbchen mit undeutlicher Polfärbung, typische Bacillen Bordet-Gengou nicht gefunden	—
10	6 Jahre	Pertussis	2. Woche	Wie No. 9 + einzelne typische Exemplare von Bacillus Bordet-Gengou	—
11	5 Jahre	Pertussis	3.—4. Woche	Epithel, sehr viele verschiedene Bakterien, Bacillen Bordet-Gengou	—
12	9 Jahre	Pertussis	3.—4. Woche	Wie No. 11	—
13	8 Jahre	Pertussis + Bronchopneumonie	4.—5. Woche	Wie No. 9	—
14	12 Jahre	Pertussis	3.—4. Woche	Epithel, Diplokokken, Diplobacillen, typische Bacillen Bordet-Gengou nicht gefunden	—

bekommen, eine Zahl von Keuchhustensputis sowie das Rachensekret der von anderen Erkrankungen befallenen Kinder zu untersuchen. Das Material von gesunden Kindern suchte ich unter den Patienten, die im bakteriologischen Institut zu Kiew mit Pasteur-Impfungen behandelt wurden. Ueber die Untersuchung der Keuchhustensputa gibt uns Tabelle III Aufschluß.

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß ich in 10 der 14 von mir untersuchten Keuchhustenfälle bipolare Bacillen, die ich mit dem Bordet-Gengouschen Stäbchen indentifiziere, nachweisen konnte; gleichzeitig (aber in geringerer Menge) waren 7mal kleinere, influenzaähnliche Bakterien von stäbchenförmiger Gestalt zu finden. In 4 übrigen Fällen konnte ich weder Bordet-Gengousche, noch diese influenzaähnlichen Stäbchen entdecken.

Die morphologischen Eigenschaften des Mikroorganismus Bordet-Gengou stimmen in meinen Fällen mit den Angaben anderer Autoren im allgemeinen überein; nur zeigte die Verteilung der Bakterien im Ausstrichpräparat geringe Differenzen gegenüber den Abbildungen von Bordet-Gengou und Klimenko. Die Stäbchen waren oft kettenförmig hintereinander angeordnet und zuweilen in Plattenepithelzellen gelegen[1]), während bei Bordet und Gengou dieselben ganz regellos und isoliert zerstreut, höchstens à 2—3 Glieder zusammengekettet, abgebildet sind. Ich bekam leider kein einziges Mal ein Sputum im Anfangsstadium der Pertussis zur Untersuchung, wo der Bordet-Gengousche Mikroorganismus fast in Reinkultur sich vorfinden soll. Den Bacillus in Reinkultur zu isolieren, gelang mir nur in 3 Fällen. Die Stämme No. 1 und 2 zeigten bald nach der Isolierung schon auf gewöhnlichem Agar ein gutes Wachstum, Stamm No. 3 aber kam auf nicht-bluthaltigen Nährböden nicht fort. Die beiden ersteren waren durch eine sehr schwache Pathogenität für Versuchstiere gekennzeichnet; von 3—4 Schrägkulturen erkrankten die Meerschweinchen, blieben aber am Leben. Stamm K_3 (= No. 3 der Fälle) dagegen tötete das Meerschweinchen in der Dosis von 1—2 Kulturen und behielt ca. 3 Monate lang seine Hämoglobinophilität.

Mit Serum von 2 Keuchhustenkranken im Spätstadium (No. 8 der Tabelle) habe ich die Komplementbindungsreaktion nach der von Bordet-Gengou (1) angegebenen Methode angestellt. Als Antigene dienten mir die Bakterienaufschwemmungen von Bordet-Gengouschen Bacillen (Stamm O und Stamm A) in physiol. NaCl-Lösung. Das Resultat war in beiden Fällen negativ.

Gleichzeitig mit den Keuchhustensputis untersuchte ich den Rachenschleim von 93 gesunden Kindern im Alter von 1—12 Jahren und 60 Fälle von Kindern mit verschiedenartigen Affektionen der oberen Luftwege (Bronchitis, Schnupfen, Grippe), bzw. mit einem katarrhalischen Zustand der Mundhöhle (Masern, Angina, Aphthae etc.). Von dem Material wurden Ausstrichpräparate angefertigt und in einigen Fällen Kulturen angelegt. Die Präparate wurden in Methylspiritus fixiert und mit Karboltoluidinblau gefärbt. Unter den 93 Fällen der 1. Gruppe (gesunder Kinder) fand ich Stäbchen, die morphologisch von den Bordet-Gengouschen Bacillen nicht zu unterscheiden waren, 17mal; unter den 60 Fällen der 2. Gruppe 20mal. Zwar war die Menge derselben in der Mehrzahl der Fälle so unbedeutend, daß ich manchmal eine lange Zeit vergebens

1) Vgl. Reyher.

suchen mußte, ehe ich ein typisches Exemplar vor die Augen bekam; deratige Fälle möchte ich eigentlich nicht in Betracht ziehen. Es finden sich bipolare, keuchhustenähnliche Bacillen in 2 Fällen unter Kranken und in 4 Fällen unter Gesunden in einer so ansehnlicher Zahl, daß der Nachweis derselben im Ausstrichpräparat keine Schwierigkeiten machte (s. Abbild.).

Die 2 Fälle waren mit der Diagnose: 1) Masern, 2) Lues congenita versehen.

In allen 6 Fällen zeigte das Ausstrichpräparat eine sehr reiche und mannigfaltige Bakterienflora. In einem Falle (Masern) habe ich die fraglichen Polbakterien in Reinkultur gezüchtet; dieselbe ist bei mir aber leider bald eingegangen und hat nicht mit Immunserum differenziert werden können.

Mit den Stämmen O, A und K_3 habe ich eine Reihe von Tierversuchen angestellt, um den experimentellen Keuchhusten hervorzurufen.

Die Identitität der Stämme A und K_3 mit dem Originalstamme O wurde mittels Komplementbindungsreaktionen mit Kaninchenimmunseris bestätigt. Die Reaktion ist folgendermaßen verlaufen[1]):

Kaninchenimmunsera (1,5 : 10)	0,5
Antigene O, A, K_3 (Schrägkultur in 20 ccm phys. NaCl-Lös. aufgeschwemmt).[2])	0,5
Meerschweinchenserum (1 : 10)	0,5
4 Stunden bei Zimmertemperatur	
Hammelblutkörperchen (1 : 20)	0,5
Hämolytisches Serum (5-fach Titer)	0,5
2 Stunden im Thermostaten.	

Resultat: Deutliche Hämolysenhemmung mit sämtlichen 3 Antigenen, Hämolyse in Kontrollreagenzgläschen.

Versuche mit Kaninchensäuglingen.

Gruppe I[3]).

No. 1—2. 8. Juni mittels Wattetampon vom Rachen mit Bordet-Gengoubacillenhaltigem Keuchhustensputum geimpft.
No. 1 † 12. Juni.
No. 3. 12. Juni mit No. 2 zusammengebracht.
No. 2—3. 3. Juli mit Keuchhustensputum infiziert.
No. 2 † 3. Juli.
No. 3 † 16. Juli.

Gruppe II.

No. 4 und 6 13. Juni wie oben infiziert.
No. 5 und 7 nicht geimpft.
No. 4 und 5 † 16. Juni.
No. 7 † 25. Juni.
No. 6 † 28. Juni.

Die Kaninchen dieser beiden Gruppen erkrankten am Tage nach der Impfung; sie wurden traurig, verweigerten das Essen und haben öfters geniest. Bei der Sektion zeigten alle zugrunde gegangenen Tiere im allgemeinen das gleiche Bild: Larynx, Trachea hyperämisch, mit Schleim gefüllt; Lungen stark hyperämisch, stellenweise verdickt; Stauungsleber, Milz, je nachdem das erkrankte Tier lange lebte, mehr oder weniger vergrößert. In Ausstrichpräparaten von Larynx-Tracheaschleim

1) Methodik von Bordet (15).
2) In schwächerer Verdünnung bewirkte das Antigen selbst, ohne Immunserum, die Hämolysenhemmung im System.
3) Die Gruppen sind, um das Protokoll anschaulicher zu machen, nicht in chronologischer Reihenfolge angeführt.

fanden sich unter anderen Bakterien in überwiegender Zahl Polstäbchen von verschiedener Größe, die an die größeren Exemplare (in flüssigen Nährböden) der Bordet-Gengouschen Bacillen resp. an die Polbakterien der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie der Tiere erinnerten.

Bei No. 1 waren diese Bakterien fast in Reinkultur (sie wurden isoliert) und lagen in den Plattenepithelzellen. Die histologische Untersuchung ergab: Larynx, leicht katarrhalischer Zustand; Lunge, einzelne Herde von katarrhalischer Pneumonie. In Ausstrichpräparaten von Blut, Lunge, Milz und Leber waren dieselben Stäbchen wie im Larynx, zuweilen in einer sehr großen Zahl (No. 4, 5, 7) nachweisbar.

Gruppe III.

No. 11, 4. Juli. In den Larynx wurde von außen her eine Aufschwemmung einer ganzen Schrägkultur von A in physiologischer NaCl-Lösung eingespritzt.
No. 11 † 5. Juli Befund bei der Autopsie wie oben.
No. 12. 9. Juli Aufschwemmung von O. in derselben Weise wie oben injiziert.
No. 12 † 10. Juli. Pathologisch-anatomische Veränderungen weniger scharf ausgeprägt; im Ausstrichpräparat aus der Trachea viele kleine, bläuliche Polstäbchen (Bordet-Gengou?), nebst größeren, mit No. 1 identischen Bacillen. In Lunge, Milz waren keine Bakterien gefunden.
No. 13. 10. Juli: von außen her eine Aufschwemmung von Bact. coli[1]).
No. 14. 15. Juli: von Bact. O.

Gruppe IV.

No. 25, 26, 27. 1. Okt. mittels Wattetampons vom Rachen aus mit Bact. A geimpft.
No. 28 nicht geimpft.
No. 25 9. Okt. mit Chloroform getötet; pathologisch-anatomisch nichts gefunden; die Ausstrichpräparate aus der Trachea bakterienfrei.

Gruppe V.

No. 23, 24, 26. Sept. von außen her } mit Bact. O. geimpft.
No. 22, 26. „ vom Rachen aus }
No. 21 nicht geimpft.

Gruppe VI.

No. 29, 30, 31. 2. Okt. von außen her mit Bact. coli.
No. 32 nicht geimpft.
No. 29, 30, 31 † 3. Okt.: Starke Hyperämie des Larynx, der Trachea, Lungen, Stauungsleber; Milz septisch. In Ausstrichpräparaten von allen diesen Organen bipolare Stäbchen wie bei No. 1 u. and.

Gruppe VII.

No. 15. 25. Juli vom Rachen aus mit Keuchhustensputum.
No. 16. 30. Juli vom Rachen aus mit K_3.

Gruppe VIII.

No. 34, 35, 36. 4. Nov. von außen her mit K_3 geimpft.
No. 33 nicht geimpft.
No. 36. 9. Nov. mit Chloroform getötet; nichts Pathologisches gefunden.

Gruppe IX.

No. 17. 22. Juli vom Rachen aus mit Sputum eines Gesunden.
No. 18. 26. Juli vom Rachen aus mit Kultur No. 1 (Kaninchen).
No. 19 u. 20 nicht geimpft.
No. 18 † 27. Juli.
No. 20 † 29. Juli.
No. 19. 30. Juli vom Rachen aus mit A.
No. 19 † 3. Aug.
Bei allen eingegangenen Tieren das pathologisch-anatomische Bild und der bakteriologische Befund wie bei No. 1, 2 usf.

1) Kontrollversuch zum Vergleich der Wirkung des Bacillus Bordet-Gengou und anderer Bakterien.

Gruppe X.

No. 41 nicht geimpft.
No. 42, 43. 5. Okt. vom Rachen aus } mit Kultur No. 1 geimpft.
„ 44. 5. „ von außen her }
No. 44 † 6. Okt. Sektionsbefund wie oben.

Zusammenfassung: 6 Kaninchen wurden mit Keuchhustensputum geimpft, 5 von ihnen sind zugrunde gegangen; 5 mit Stamm A, † 1; 4 mit K_3, † 0; 4 mit Bact. coli, † 3; 5 mit Stamm O, † 1; 5 mit No. 1, † 2; 7 waren nicht geimpft worden, 3 von ihnen waren von Nachbarn angesteckt und sind eingegangen; 1 Kaninchen bekam das Sputum vom gesunden Menschen und blieb am Leben.

Aus dem Versuchsprotokoll folgt, daß bei der Erkrankung der Kaninchen das zum Infizieren verwendete Material eine untergeordnete Rolle gespielt hat; der Tod der Tiere wurde scheinbar durch ein Polstäbchen aus der Gruppe der Bacillen der hämorrhagischen Septikämie herbeigeführt. Kontrollversuche mit Bacterium coli stützen diese Annahme. Derartige Bacillen konnte ich mehrmals in Ausstrichpräparaten aus dem Rachen gesunder Kaninchen, vor den Versuchen mit denselben, nachweisen; sie gehören wahrscheinlich zu den sogenannten „Sputumbakterien“ Kitts[1]).

Die Wirkung der in unseren Experimenten angewandten Bakterien (Bacillus Bordet-Gengou und Bact. coli) sowie des Keuchhustensputums auf die Tiere ist demnach im Sinne eines prädisponierenden Momentes, welches das Zustandekommen einer eigentümlichen Kaninchenseptikämie bedingte, zu deuten. Eine spezifische, keuchhustenähnliche Erkrankung bei jungen Kaninchen experimentell hervorzurufen, ist uns also nicht gelungen.

Unsere Experimente dienen zur Bestätigung der Angaben von Klimenko, welcher Kaninchen als für Keuchhusten unempfänglich bezeichnet hat.

Versuche mit jungen Hunden.

Um den Grad der Empfänglichkeit der Hunde für die Infektion mit dem Bordet-Gengouschen Bacillus zu bestimmen, infizierte ich sie auf verschiedenem Wege: Ich beschmierte Nase und Rachen mit der Bakterienemulsion, spritzte dieselbe in die Trachea von außen her ein, oder führte, nachdem ich die Nadel von der Spritze abgenommen hatte, ich die letztere tief in das Nasenloch ein und spritzte unter starkem Anpressen mit gleichzeitigem Verschließen des Mundes das ganze Quantum ein. Der Hund inspirierte unwillkürlich die Emulsion und reagierte darauf mit einer kurzdauernden Asphyxie und mit nachfolgendem energischen Räuspern bzw. reflektorischem Husten.

Serie I.

5 Hunde im Alter von 2—3 Monaten.
Impfmaterial: Aufschwemmung einer 48-stündigen Agarkultur A.

Hund No. 1.

23. Febr. Nase und Rachen beschmiert.
1. März. In die Trachea eingeführt.
7. März in die Nase eingespritzt.
20. März per Trachea.

1) Vgl. Andreeff im Lehrbuch von Metschnikoff und Tarasewitsch. Bd. 2. p. 563.

Hund No. 2.

20. März. Per Trachea geimpft.
25. März. No. 1 und 2 mit 3, 4, 5 zusammengebracht.

Die Infizierung hatte bisher keinen Erfolg gehabt; die Hunde reagierten auf jeden Eingriff nur mit einem kurzdauernden Mattigkeitszustand, haben sich aber bald erholt.

3. IV. Plötzlich erkrankten sämtliche 5 Hunde.

Die Erkrankung machte den Eindruck eines akuten Katarrhs der Schleimhäute: Schnupfen und Husten, starke Conjunctivitis, Erscheinungen gastrointestinaler Natur. Der Husten war trocken, bellend, mitunter von Erbrechen begleitet. Ausfluß aus der Nase hat im Laufe der ganzen Krankheit angehalten; die Conjunctivitis hat am Ende einen eitrigen Charakter angenommen und wurde in einigen Fällen durch Keratitis, welche mit einem Leukom ausheilte, kompliziert. Das geschilderte Krankheitsbild erinnert sehr an den Verlauf der Hundepest, wie dieselbe im Lehrbuch von Hutyra und Mareck (35) dargestellt ist; ich konnte zwar bei meinen Tieren keine Erscheinungen seitens des Nervensystems, sowie kein Exanthem bemerken; nach den Angaben von Hutyra und Mareck brauchen aber diese beiden Symptome gar nicht so ausgeprägt zu sein.

Die Krankheit dauerte etwa 1 Monat; dann hat sie bei 4 Hunden nachgelassen, der Husten verschwand; der Hund No. 5 (ein von nicht künstlich infizierten) erholte sich aber nicht und ist 33 Tage nach Beginn der Erkrankung eingegangen.

Während der ganzen Krankheit der Hunde waren die Polstäbchen, die mit den Bordet-Gengouschen Bacillen morphologisch identisch waren, in Ausstrichpräparaten vom Nasen-, Rachen- und Augensekret nachweisbar; in der Einsaat bildeten sie Kolonieen, aber nicht in Reinkultur. Bei der Autopsie des eingegangenen Hundes No. 5 zeigte sich eine Hyperämie des Larynx und der oberen Teile der Trachea, ein glasig-eitriges Sekret in derselben; die Lungen stellenweise verdickt. Im Ausstrichpräparat vom Larynxschleim Bordet-Gengousche Bacillen, in der Einsaat Reinkulturen derselben.

Bei allen 5 Hunden dieser Serie beobachtete ich also eine Affektion, die einerseits an die Hundepest erinnerte, andererseits aber als keuchhustenähnlich angesprochen werden kann. Wie stark der Zusammenhang zwischen dieser Erkrankung und der Infektion mit den Bordet-Gengouschen Bacillen ist, möchte ich dahingestellt sein lassen[1]).

Serie II.

8 Hunde, 1—3 Monate alt.

Die Hunde wurden in einzelne Käfige eingesperrt und mittels einer Kehlkopfspritze, bzw. per Trachea von außen her, öfters nach beiden Methoden, gleichzeitig infiziert. Als Impfmaterial dienten Bakterienemulsionen von den Stämmen A, O, K_3 und das Keuchhustensputum. Uebrigens sind sämtliche Experimente einander so ähnlich verlaufen, daß ich in der Beschreibung derselben mich ganz kurz fassen kann.

Die Hunde standen ca. 2 Monate unter Beobachtung; im Laufe dieser Zeit wurden sie mit einer beträchtlichen Menge des Materials (bis 2 Schrägkulturen auf jedes Tier) geimpft, und zwar einige mehrmals, mit Zwischenperioden von 2—3 Wochen, die anderen nur einmal. Auf jede Impfung reagierten sie mit einem leichten Beklemmungszustand, erholten sich aber in 1—2 Tagen und wurden wieder lebhaft und munter. In Rachenausstrichen konnte man nach jeder Impfung eine große Zahl von Bordet-Gengouschen Stäbchen, welche allmählich, wenn der Schleim etwas eitriger wurde, verschwanden, auffinden. Weder Husten noch eine andere andauernde Erkrankung wurde bei den Versuchstieren jemals bemerkt, ausgenommen bei Hund No. 12, bei dem an der Stichstelle am Halse eine Fistel sich bildete, welche Heiserkeit beim Bellen hervorrief.

Die Mehrzahl der Hunde (No. 6, 7, 8, 9, 12) wurde später mit Chloroform getötet und pathologisch-anatomisch, zum Teil auch histologisch und bakteriologisch untersucht. Die Untersuchung ergab folgendes: Larynx und Trachea wenig

1) Die Gewinnung der Reinkultur des Bordet-Gengouschen Mikroben aus dem Larynx des eingegangenen Hündchens bildet an und für sich noch keinen allzu großen Beweis gegen die Annahme einer Mischinfektion, denn das Hundepestvirus ist, wie die neuesten Untersuchungen nachweisen, durch die Berkefeld-Kerze filtrierbar [Carre (36), Eigen (36)] und kann also den gewöhnlichen Untersuchungsmethoden entgehen; außerdem verschwindet es gegen Ende der Krankheit aus dem Tierorganismus vollständig (Hutyra und Marek).

hyperämisch, mit einer kleinen Menge von Schleim (bei No. 12 eitrig) gefüllt; Lungen nicht verdickt, mit kleinen, punktförmigen und größeren, diffusen Hämorrhagien durchsetzt. In Ausstrichpräparaten von der Trachea bücherförmige Zellen, stets Bordet-Gengousche Bacillen (niemals in Reinkultur); im Ausstrich von der Lunge keine Bakterien. Histologisch: Larynx ganz leicht katarrhalisch, Lunge mit Blut überfüllten Gefäßen, hie und da Hämorrhagien, stellenweise in den Bronchien Desquamativkatarrh, nirgends in das Lungengewebe fortschreitend.

Wenn ich nun die Resultate meiner Versuche mit Hunden zusammenfasse, so komme ich zu dem Schlusse, daß es mir in keinem Falle geglückt ist, eine so ausgesprochen typische, pertussisgleiche Erkrankung, wie es der „experimentelle Keuchhusten" von Klimenko ist, hervorzurufen.

Des weiteren ist bemerkenswert, daß in Ausstrichen vom Rachen normaler Hunde vor der Impfung derselben kleine Polstäbchen, die in hohem Grade an die Bordet-Gengouschen Bacillen erinnerten, in einigen meiner Fälle zu finden waren. Solche bipolare ovoidale Bacillen wurden bekanntlich von verschiedenen Autoren bei den an Pest erkrankten Hunden in großer Menge bemerkt und früher selbst als Erreger der genannten Krankheit angesprochen (Bacillus bipolaris septicus Lignières).

Schlußfolgerung.

Die Frage über den Bordet-Gengouschen Bacillus als Erreger der Pertussis bleibt immer noch offen. Seine Spezifität bei Keuchhusten ist noch nicht ganz erwiesen.

Der Zusammenhang der Immunitätserscheinungen und der Pathogenese dieser Krankheit mit dem Auffinden des Bordet-Gengouschen Mikroorganismus ist noch nicht genügend aufgeklärt.

Die Ergebnisse der Versuche, den experimentellen Keuchhusten hervorzurufen, bedürfen auch einer weiteren Nachprüfung.

Trotzdem ist als sicher hervorzuheben, daß wir unter den zahlreichen in dieser Richtung ausgeführten Untersuchungen kein einziges Ergebnis anführen können, welches uns das Recht geben könnte, dem Keuchhustenbacillus Bordet-Gengou jegliche ätiologische Bedeutung abzusprechen.

In der großen Reihe der früher beschriebenen Keuchhustenerreger (Affanassieff, Jochmann-Krause u. v. a.) besitzt ohne Frage die größte Beweiskraft bezüglich der Spezifität „le microbe de la coqueluche" von Bordet und Gengou.

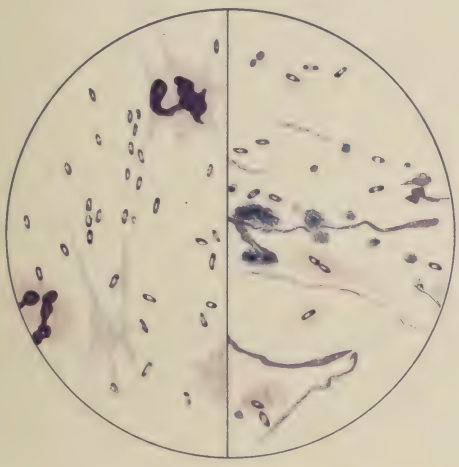
Literatur.

1) Bordet J., et Gengou, O., Le microbe de la coqueluche. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 20. 1906.)
2) Klimenko, W. N., Aetiologie des Keuchhustens. Der experiment. Keuchhusten. (Russky Wratsch. 1908. No. 19.)
3) — Zur Aetiologie des Keuchhustens. (Dtsche. med. Woch. 1908. No. 47.)
4) Arnheim, G., Ueber den gegenwärtigen Stand der Keuchhustenfrage. (Berlin. klin. Wochenschr. 1908. No. 31; zit. nach Menschikoff.)
5) Menschikoff, W. K., Ueber den Keuchhustenerreger. (Russky Wratsch. 1909. No. 31.)
6) Fraenkel, C., Untersuchungen zur Entstehung des Keuchhustens. (München. med. Wochenschr. 1908. No. 32.)

7) Seiffert, G., Ueber den Bordetschen Keuchhustenbacillus. (München. med. Wochenschr. 1909. No. 3.)
8) Soulima, Contribution à l'étude de l'étiologie de la coqueluche. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 63. 1907. p. 11.)
9) Klimenko, W. N., Bakteriologische Untersuchung des Blutes von Keuchhustenkranken etc. (Russky Wratsch. 1910. No. 4.)
10) Wollstein, M., Der Bordet-Gengousche Keuchhustenbacillus. (Ref. in Arch. f. Kinderheilk. 1909. No. 1.)
11) Bächer u. Menschikoff, Ueber die ätiologische Bedeutung des Bordetschen Keuchhustenbacillus etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1911. H. 3.)
12) Odaira, Beiträge zur Kenntnis der hämoglobinophilen Bacillen etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1911. H. 4/5.)
13) Bordet et Gengou, L'endotoxine coqueluche. (Annal. d. l'Inst. Pasteur. 1909. p. 415.)
14) — Note complém. sur le micr. de la coqueluche. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1907. p. 720.)
15) Klimenko, W. N., Morphologie und Biologie des Keuchhustenbacillus. (Arch. f. biolog. Wissensch. Bd. 15. 1909. H. 5.)
16) Bordet, Bull. de l'Acad. Roy. de Méd. de Belgique. Sér. IV. T. 32; zit. nach Klimenko, 15.)
17) — Note complém. sur le micr. de la coqueluche. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912. H. 2/4.)
18) Bordet et Sleeswyk, Sérodiagnostic et variabilité de micr. suivant le mil. etc. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1910. p. 476.)
19) Czaplewski u. Hensel, Bakteriol. Untersuch. bei Keuchhusten. (Dtsche. med. Wochenschr. 1897. No. 37.)
20) — — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 22. 1897.
21) Czaplewski, Zur Frage der bei Keuchhusten beschriebenen Polbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 24. 1898.)
22) Reyher, P., Zur Aetiologie und Pathogenese des Keuchhustens. (Jahrb. f. Kinderheilk. 1903. p. 606.)
23) — Ein weiterer Beitrag zur Bakteriologie des Keuchhustens. (Charité-Ann. 1905. p. 273.)
24) Bordet et Gengou, Le microbe de la coqueluche. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1907. p. 733.)
25) Reyher, Le microbe de la coqueluche. (l. c. p. 727.)
26) Affanassieff, Wratsch. 1887. No. 33—38.
27) Savtschenko, Wratsch. No. 49—51.
28) Jochmann u. Krause, Ueber das fast konstante etc. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 94. 1903.)
29) Manicatide, Ueber Aetiologie und Serotherapie des Keuchhustens. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1903.)
30) Delcourt, La patholog. infantile. 1912. No. 1; zit. nach d. Ref. in Russky Wratsch. 1912. No. 44.
31) Bordet, J., et Gengou, O., Le diagnostic de la coquel. fruste par la méthode de fixation d'alexine. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. H. 6.)
32) Metschnikoff u. Tarasewitsch. Med. Mikrobiol. Rus. 1912.
33) Casagrandi, Sull'etiolog. della tosse convuls. (Zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 12. 1909.)
34) Klimenko, Ueber das Antikeuchhustenserum. (Arch. f. biolog. Wissensch. Bd. 17. 1911. H. 2.)
35) Hutyra u. Marek, Spez. Pathologie und Therapie der Haustiere.
36) Eigen, Aetiologie der Hundepest etc. (Archiv f. tierärztl. Wissensch. Russ. 1912. No. 10.)

Erklärung der Abbildungen.

1) Ausstrich vom Keuchhustensputum (nach Bordet-Gengou [1]).
2) Ausstrich vom Rachensekret eines gesunden Kindes (eigen. Präpar.).



1 2

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

Nachdruck verboten.

Eine Bacillenruhrseuche in Piemont[1]).

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität in Turin
(Leiter: Prof. L. Pagliani).]

Von Dr. **G. Sangiorgi** und Dr. **G. Bongioannini.**

Gegen Mitte September 1912 trat in dem zur Gemeinde Rocca Canavese (Provinz Turin) gehörenden kleinen Flecken Piana eine Erkrankung auf, die rasch den Charakter einer Seuche annahm, indem sie $^1/_5$ der Gesamtbevölkerung, d. h. 12 Individuen, darunter 3 Kinder im Alter von 5—9—12 Jahren und 9 Erwachsene verschiedenen Alters, ergriff. Diese Erkrankung hatte bei allen Kindern einen sehr schweren Verlauf; der Tod trat 4—6 Tage nach dem Erscheinen der ersten Krankheitssymptome ein. Bei den Erwachsenen dagegen war der Verlauf weniger schwer; die Besserung trat im Durchschnitt nach 10—15 Tagen ein. Bei den in Heilung übergehenden Fällen bestand auch, nachdem der Kranke das Bett verlassen hatte, lange Zeit hindurch allgemeine Schwäche, starke Abmagerung und Blässe.

Die ersten Krankheitserscheinungen traten sowohl bei Kindern wie auch bei Erwachsenen plötzlich auf. Es eröffneten den klinischen Reigen heftige, zuweilen von Erbrechen begleitete Leibschmerzen, denen sich ein unstillbarer Durchfall anschloß. Die äußerst zahlreichen Entleerungen folgten aufeinander in kurzen Abständen unter schmerzhaftem Zwang; der stark stinkende Kot verlor bald sein normales Aussehen und zeigte sich als schleimig-eitrig-blutiges Gemisch, wobei letzteres zumeist in beträchtlicher Menge vorhanden war. Bei den Kindern gaben der bedeutende Kräfteverfall, das Zurücktreten des Unterleibes, die Facies peritonitica und der Verlust des Bewußtseins dem klinischen Bild ein ganz besonders schweres, gefahrdrohendes Gepräge. Die Erkrankung hatte in den meisten Fällen einen fieberhaften Verlauf, bei den Kindern bis zur Höchsttemperatur von 39,1°. Letztere verstarben mit Untertemperatur, die sich viele Stunden vor dem Eintritt des Todes eingestellt hatte. Eine Komplikation von seiten der anderen Organe war gewöhnlich nicht zu verzeichnen.

Leichenbefund: Bei einem Verstorbenen (einem 12-jährigen Kinde) konnte den Bemühungen Bongioanninis zufolge eine teilweise, auf die Bauchhöhle beschränkte Sektion vorgenommen werden.

Bei Eröffnung des Unterleibes erschien der Dickdarm über sich selbst zurück- und zusammengezogen, ödematös; die Gefäße des Grimmdarmgekröses waren stark mit Blut angefüllt, die Lymphdrüsen angeschwollen und stark hyperämisch. Auf der Oberfläche der Leber wurden ziemlich regelmäßige, nach Entartung aussehende Flecken wahrgenommen, die bis zu einer gewissen Tiefe (5—10 mm) beim Einschnitt in das Organ sich wahrnehmen ließen. Von Milzvergrößerung keine Spur. Bei Eröffnung des Dickdarms fand man darin wenig schleim-, eiter- und bluthaltiges Material vor. Bei der Prüfung der Darmschleimhaut fiel uns vor allem das Vorhandensein nicht sehr ausgedehnter, aber äußerst zahlreicher, unregelmäßiger Geschwüre mit morschem, jauchigem, nekrotischem Grunde auf. In den nicht ulcerierten Zonen ließ die Schleimhaut trotz des ödematösen Zustandes die Lymphfollikel bedeutend vergrößert erscheinen. Die Darmverletzung erstreckte sich von der Ampulle des Mastdarms bis etwa 10 cm unterhalb der Bauhinschen Blinddarmklappe. Abgesehen von einer durchfallartigen, gelblichen Flüssigkeit, bot der Dünndarm nichts Besonderes; sein normales Aussehen stach sogar äußerst stark ab von der gewaltigen Veränderung des Grimmdarms.

Der pathologisch-anatomische Befund bestätigte vollkommen das klinische Urteil: Es handelte sich um eine auf den Dickdarm beschränkte Darmerkrankung (ulzerös-nekrotische Colitis) von unzweifelhaft infektiöser Natur.

Logischerweise mußte sich unter solchen Umständen unsere Aufmerksamkeit den Ausleerungsprodukten zuwenden.

1) Bericht an die Piemontesische Gesellschaft für Hygiene, Sitzung vom 21. Dez. 1912.

Wir untersuchten daher post mortem den von dem zur Sektion gekommenen Fall gelieferten sowie den einer 57-jährigen Frau auf der Höhe der Krankheit intra vitam entnommenen Kot. Die besonders auf die schleimig-eitrigen Flocken gerichtete Prüfung ergab das Vorhandensein mehr oder weniger beschädigter Darmschleimhautepithelzellen, einer großen Anzahl von Eiterkörperchen, roten Blutkörperchen und einer bedeutenden Menge Schleim. In den mit verdünntem Ziehlschen Fuchsin nach Gram + Fuchsin und dann nach Giemsa gefärbten Präparaten wurde die Gegenwart einer bedeutenden Menge kurzer, nicht sehr dicker, an den Enden abgerundeter Bacillen festgestellt, von denen sich sehr viele im Innern der Zellen vorfanden. Auf Grund der bei der direkten Prüfung erhaltenen Ergebnisse schritten wir zur Isolierung, indem wir zur Vermeidung einer übergroßen Entwickelung 1 Oese verdünnter Flüssigkeit auf das erste und dann von da auf das zweite, Fleischbrühe enthaltende Röhrchen verteilten. Mit dem so im zweiten Röhrchen stehenden, verdünnten Material wurden Ausstriche auf Agar-Laktose-Lackmusplatten nach Drigalski-Conradi hergestellt. Nachdem diese 24 Stunden bei 37° im Brutofen verblieben waren, fanden sich in den Platten beider Fälle rundliche, kleine Kolonieen von kaum mehr als 1 mm Durchmesser mit deutlichen Umrissen, die im durchfallenden Lichte bläulich-weiß, durchscheinend, milchig erschienen und die Reaktion des Nährbodens in keiner Weise verändert hatten. Gleichzeitig waren auch andere, äußerst spärliche, aber größere, im durchfallenden Lichte weniger durchscheinende Kolonieen entstanden, in deren Umgebung der Nährboden rot war. Bei diesen letzteren säuernden, aus beweglichen gramnegativen Bacillen gebildeten Kolonieen, die die Milch innerhalb 36 Stunden zur Gerinnung brachten und in zuckerhaltigen Nährböden (Bact. coli) ziemlich viel Gas entwickelten, haben wir uns weiter nicht aufgehalten, weil sie erstens nur in sehr spärlicher Anzahl vorhanden waren, und sich uns dann auf Grund der inzwischen mit den anderen Kulturen erhaltenen Ergebnisse immer mehr der Verdacht aufdrängte, daß die Ursache der Krankheit den Keimen der nicht säuernden, in weit größerer Menge vorhandenen Kolonieen zuzuschreiben sei. Nachstehend berichten wir über die morphologischen und biologischen Merkmale des Keimes der nicht säuernden Kolonieen in vitro und in vivo.

Merkmale des isolierten Keimes: Kurzer, 1—3 μ langer, an den Enden abgerundeter, nach den gewöhnlichen Verfahren leicht färbbarer, gramnegativer Bacillus ohne Eigenbewegung, aber mit lebhafter molekularer Schwingung. Er trübt Fleischbrühe gleichmäßig und bildet dabei einen dünnen Ring, aber keine Haut. Indol erzeugt er selbst bei mehr als 2-wöchentlichem Verbleib im Brutofen weder in Fleischbrühe, noch in peptonisiertem Wasser. In Gelatine, die nicht verflüssigt wird, erscheinen nach 48 Stunden die oberflächlichen Kolonieen zart, durchsichtig, mit unregelmäßigen Umrissen, die an das bekannte Aussehen der „Traubenblätter“ erinnern. Milch (30 Tage in Beobachtung) bringt er nicht zum Gerinnen. In Fleischbrühen, zuckerhaltigem Agar (mit Glukose, Saccharose, Laktose zu 2 Proz.) entwickelt er kein Gas. Im Neutralrotagar führt er zu keiner Fluoreszenz; das (nach Petruschky mit Lackmus gefärbte) Milchserum führt er ohne Trübung nach 24-stündigem Verbleib im Brutofen endgültig in Rot über. In mit Lackmus gefärbtem Maltoseagar verschwindet die nach 24 Stunden deutlich saure Reaktion nach Verlauf von 48 Stunden und wird alkalisch. In mit Lackmus gefärbtem Mannazuckeragar kommt es beständig zu saurer

Reaktion. Im Experiment (Kaninchen) erzeugt dieser Keim keine Ruhr, noch ist er virulent (Methode Neisser und Shiga).

Wie sich aus dem Gesagten entnehmen läßt, müßte dieser Mikroorganismus der Summe seiner Merkmale wegen zu der Ruhrbacillengruppe gestellt werden; genau genommen gleicht er jedoch keinem der bisher beschriebenen Grundtypen besonders. Als Typus der Mannitfermente (Acid strain „of dysentery bacilli" nach der Anschauung der amerikanischen Verfasser) und atoxischer Typus (nach der Ansicht der deutschen Forscher) nähert er sich mehr dem Typus Strong, Flexner, Hiss-Russell (ganz besonders den beiden letzten, durch seine Eigenschaft, Saccharose nicht zur Gärung zu bringen) als dem Typus Shiga-Kruse, mit dem er nur das Ausbleiben der Indolbildung und der Fluoreszenz im Neutralrotagar gemein hat. Von ersteren dagegen unterscheidet er sich durch sein besonderes Verhalten auf Maltose. Angesichts der Unmöglichkeit, aus dem biologischen Experiment mit Zucker die nötigen Grundlagen für ein endgültiges Urteil zu erhalten und gegenüber dem bekannten, erst neuerdings festgestellten [1]), verschiedenen Verhalten der einzelnen Typen der Ruhrbacillen Zucker gegenüber haben wir weitere, auf die Agglutinationserscheinung gestützte Untersuchungen vorgenommen.

Das Ergebnis derselben, das sei vorausgeschickt, war ganz und gar dazu angetan, unsere eingangs auf Grund des Studiums der Kulturmerkmale wachgerufene Ueberzeugung zu festigen, daß nämlich der von uns isolierte Keim zu keinem der 4 Haupttypen der Ruhrbacillen gerechnet werden kann, sondern einen biologisch zwischen ihnen liegenden Typus darstellt. In der Tat agglutinierte keines der den B. Shiga-Kruse, B. Flexner, B. Strong, B. Hiss-Russell (im jeweiligen Verhältnis von 1 : 1000, 1 : 500, 1 : 500, 1 : 400) agglutinierenden Seren unseren Keim. Bei der Gegenprobe erwies sich das vermittels Immunisierung von Tieren (Kaninchen) auf endoperitonealem Wege erhaltene und unseren Keim im Verhältnis von 1 : 1500 agglutinierende Serum weder den genannten Typen noch dem Typhusbacillus (auf den wir unsere Versuche der größeren Sicherheit wegen ausgedehnt haben) gegenüber aktiv. Aus äußeren Gründen mußten wir leider darauf verzichten, das Agglutinationsvermögen des Serums der vom Keime infizierten Individuen zu bestimmen, um dann an der Hand desselben, den Ansprüchen der modernen Forschung genügend, auf die Frage nach der Spezifizität der ätiologischen Beziehung antworten zu können.

Trotz alledem aber behaupten wir ohne das geringste Bedenken, daß der von uns isolierte Keim als die Ursache der Epidemie von Rocca Canavese anzusehen ist. Diese Behauptung findet ihre volle Bestätigung darin, daß wir ganz verschiedenen, mit dem unter verschiedenen Verhältnissen (intra vitam et post mortem) entnommenen Kot zweier Fälle denselben Befund und (was seine nicht geringe Bedeutung hat) den Keim in beiden Fällen, fast in Reinkultur, schon bei der ersten Isolierungsprobe erhalten haben.

Würde heute in der Literatur der Bacillenruhr noch die Anschauung von der „Pseudo-" oder „Paradysenterie" vorherrschen, zufolge deren

1) Shiga isolierte 1906 einen Ruhrbacillus, der in Mannazucker eine saure Reaktion gab, die nach 4 Tagen alkalisch wurde; er stellt nach ihm den 5. Typus dar. Hiss und Shiga geben zu, daß der Typus Flexner Saccharose vergärt; neuerdings hat Pottevin (Bull. soc. pathol. exot. 1910) nachgewiesen, daß auch der Typus Shiga den Mannazucker angreifen kann.

man jede Dysenterie, wie vorstehend benannte, die nicht von dem Erreger „der wahren Ruhr", dem Bac. Shiga-Kruse, hervorgerufen war, so hätte man für die Epidemie in Rocca Canavese, trotz ihres typischen klinischen pathologisch-anatomischen und epidemiologischen Aussehens, einen der beiden Namen wählen müssen, die zusammen mit anderen Benennungen, welche sich sogar auf besondere Eigenschaften der betroffenen Individuen erstreckten (Dysenterie der Geisteskranken, Kinderruhr), sehr große Verwirrung angestellt haben. Nachdem jedoch neuerdings zahlreichen Untersuchungen [1]) zufolge klinische, ätiologische und epidemiologische Tatsachen zutage gefördert worden sind, die die alte Anschauung von der Pluralität der Bacillenruhr in sehr zweifelhaftem Licht erscheinen lassen, hat heutzutage fast allgemein der Glaube an eine ausschließliche Bacillenruhr Platz gegriffen (gleichviel ob die biologischen Merkmale des krankheitserregenden Keims dem klassischen Typus mehr oder weniger nahestehen), womit dann logischerweise auch der allgemeine Begriff „Dysenteriebacillus" verbunden ist. Gerade die von uns studierte Epidemie gibt uns ein neues klares Beispiel, das den neuen Begriff, der auf eine Anerkennung der spezifischen Einheitlichkeit der Bacillenruhr hinzielt, nur zu bekräftigen vermag. Die von uns beobachtete Seuche muß demnach für eine durch einen „Ruhrbacillus" hervorgerufene „Bacillenruhr" angesprochen werden, die vom biologischen Standpunkt aus eine Mittelstellung einnimmt zwischen beschriebenen gewöhnlichen Typen.

Die Seuche von Rocca Canavese liefert uns aber auch den Stoff zu anderen, nicht wertlosen Betrachtungen über ihren Ausgangspunkt.

Zweckentsprechende Nachforschungen Bongioanninis haben festgestellt, daß der erste Fall einige Tage nach der Ankunft eines aus Libyen zurückgekehrten Soldaten, der dort ungefähr 2 Monate vorher an Ruhr erkrankt war, vorgekommen war. Auf Grund der uns mündlich gegebenen Anhaltspunkte besteht eine große Aehnlichkeit zwischen den beim Soldaten aufgetretenen Krankheitserscheinungen und denjenigen, die bei den von der Seuche erfaßten Individuen festgestellt werden konnten. Leider ist dieses Individuum fortgegangen, und zwar gerade in dem Moment, in dem wir seinen Kot auf Keime untersuchen wollten. Auf jeden Fall ist die Vermutung berechtigt, daß der Soldat ein Bacillenträger gewesen ist [2]) und als solcher den Ausgangspunkt der Seuche abgegeben hat. Ein Beweis dafür ist die Aussage des Soldaten, daß er seine Entleerungen an den verschiedensten Punkten des Fleckens gemacht hat, woraus sich dann leicht weiter ergibt, daß infolge dieser tadelnswerten Handlung die Verunreinigung des Brunnenwassers in den wenig tiefen und unbedeckten Ziehbrunnen zustande kam. Daß die Seuche durch das Wasser verbreitet worden ist, beweist schon die Schnelligkeit, mit der nach dem ersten Falle die anderen folgten, sowie der Umstand, daß die Seuche auch rasch wieder verschwand, nachdem auf Antrag des Amtsarztes (Bongioannini) die Brunnen gründlich und sachgemäß gereinigt worden waren.

---

1) Siehe die Arbeiten von Dopter, Ch., Les dysentéries. Paris (O. Doin et fils) 1909 und von Lentz, O., Dysenterie. (Handb. d. pathog. Mikroorgan. v. Kolle u. Wassermann. Ergänzungsbd. 2. 1909.)

2) In der Literatur sind Fälle bekannt, in denen die Bacillenträger die spezifischen Keime der Ruhr sehr lange Zeit hindurch abgaben, so zitiert z. B. Simon (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910) den Fall eines Soldaten, der 414 Tage lang Hiss-Russell-Bacillen entleerte.

Nicht unangebracht erscheint es uns daher, auf Grund dieser kleinen, aber lehrreichen Seuche auf die Gefahr aufmerksam zu machen, die in der Ueberführung dieser Krankheitsform (der Italien schon einen nicht unbedeutenden Tribut gezahlt hat)[1]) aus Libyen nach Italien besteht, die in bezug auf Ansteckung, Zahl der betroffenen Personen, Krankheitsfolgen, dem Prozentsatz der Todesfälle bei anderen, mehr gefürchteten Krankheiten in nichts nachsteht.

Nachdruck verboten.

Bericht über eine Malariaexpedition nach Jerusalem[2]).

Von Marine-Oberstabsarzt S. II. Prof. Dr. **Mühlens**, Hamburg, Tropeninstitut.

Mit 6 Tafeln und 5 Textfiguren.

A. Allgemeines.

Die Expedition, über die im folgenden berichtet werden soll, wurde angeregt von Sr. Exz. dem Oberhofmeister I. M. der Kaiserin, Freiherrn v. Mirbach, der bei wiederholten Besuchen Jerusalems einen Eindruck von den unhygienischen und besonders den Malariaverhältnissen daselbst gewonnen hatte. Die von ihm gegebene Anregung wurde von Herrn Geheimrat Prof. Dr. Pannwitz, Generalsekretär der internationalen Vereinigung gegen die Tuberkulose, im Einvernehmen mit Herrn Ministerialdirektor Prof. Dr. Kirchner in die Tat umgesetzt. Seit nunmehr fast 2 Jahren haben vorbereitende Beratungen stattgefunden. Nach Bildung eines zwanglosen Komitees in Berlin, dem hervorragende Vertreter der Wissenschaft und der in Jerusalem interessierten konfessionellen Richtungen angehörten, kam es im August 1912 zur Entsendung einer „Vorexpedition", die in Jerusalem die hygienischen Verhältnisse studieren und eventuell Vorschläge zu ihrer Beseitigung machen sollte. Die Geldmittel für die Expedition wurden durch freiwillige Spenden aufgebracht. Das Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg stellte mit Genehmigung des Senats die Expeditionsausrüstung zur Verfügung. Auch bewilligte der Senat dem Berichterstatter als Leiter der Expedition den erforderlichen Urlaub. Zur Expedition gehörten noch als Mitarbeiter die im Hamburger Tropeninstitut ausgebildete Schwester Annie Krakow vom „Deutschen Verein für Krankenpflege in den Kolonieen", Herr stud. med. Hanns Pannwitz und meine Frau.

Wir trafen am 30. August in Jerusalem ein.

Von Exz. von Mirbach angemeldet, fanden wir zunächst in der die Spitze des Oelbergs krönenden, von der Schwester Theodore Barkhausen mustergültig geleiteten wunderschönen Kaiserin Auguste Viktoria-Stiftung herzliche Aufnahme und eine ganz besonders gute Verpflegung. In den uns daselbst zur Verfügung gestellten Laboratoriumsräumen ließ es sich ausgezeichnet arbeiten. Und ich will nicht verfehlen, zu betonen, daß gerade die für uns so günstigen

1) Bakteriologisch nachgewiesene Bacillenruhrseuchen haben sich abgespielt in der Provinz Belluno (1903), Pavia (1905) und sind von A. Bajardi, Roma (Stamp. Reale) 1903 bzw. von Negri u. Pane (Arch. d. scienz. med. 1906) beschrieben worden.

2) Siehe auch Vorl. Reisebericht. (Deutsche med. Wochenschr. 1912. No. 43.)

Aufenhaltsbedingungen uns zu höchster Arbeitskraft befähigten. Betrugen doch im Hospiz selbst an den heißesten Tagen die Nachttemperaturen selten über 22—23° C, so daß stets ein erquickender Schlaf möglich war. In Jerusalem selbst war es — namentlich während der Sirokko-Tage im Oktober — mitunter fast unerträglich, und wir waren dann froh, wenn wir nach vollendetem Tagewerk wieder oben waren. Manche Jerusalemer und Fremde, namentlich auch Engländer, verleben einen Teil der heißen Sommertage in der deutschen Oelberg-Stiftung, die den Erholungsbedürftigen einen erfrischenden Aufenthalt bietet.

Anfangs Dezember mußten wir das liebgewonnene Heim verlassen, weil wir inzwischen in Jerusalem ein Haus für unsere erweiterte Untersuchungsstation gemietet hatten und so die täglichen Wagenfahrten vom Oelberg zur Stadt und zurück zu kostspielig und auch in der inzwischen eingetretenen kalten Regenzeit zu ungemütlich wurden. Wir fanden dann in dem großen schönen, deutschen katholischen St. Pauls-Hospiz am Damaskustor ebenfalls das denkbar beste Entgegenkommen und vorzüglichste Aufnahme. Der ehrwürdige Direktor, Herr Pater Superior E. Schmitz, war in geradezu rührender Weise um unser Wohlbefinden besorgt.

Vom 14.—24. Nov. weilte auch Herr Geheimrat Pannwitz zur persönlichen Orientierung und zu Verhandlungen in Jerusalem. Mit ihm kehrte unser Expeditionsmitglied Herr Hanns Pannwitz nach Deutschland zurück. Meine Frau und ich verließen Jerusalem am 19. Jan. 1913 nachdem Herr Dr. Huntemüller vom Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch", Berlin, zur Assistenz und Vertretung hinausgekommen war. Die Schwester Annie Krakow blieb in der Untersuchungsstation in Jerusalem.

Täglich arbeiteten wir durchschnittlich 12—13 Stunden; anders hätten wir die notwendigen Untersuchungen nicht bewältigen können. Gleich am Tage der Ankunft begann ich unsere Tätigkeit mit Besuchen bei deutschen Aerzten und beim deutschen Generalkonsul Herrn Schmidt, der uns dauernd hilfsbereit mit Rat und Tat zur Seite stand. — In den folgenden Tagen wurden auch die leitenden Aerzte der anderen Nationen sowie die Vorsteher der größeren Lehr- und Wohltätigkeitsanstalten besucht. Später folgten Besuche beim Gouverneur, zu dem mich der Herr Generalkonsul begleitete, ferner bei den fremden Konsuln, beim Bürgermeister von Jerusalem, sowie bei den Häuptern der verschiedenen religiösen Richtungen. Hier möchte ich gleich bemerken, daß es wohl nicht viele Städte auf der Welt gibt, in denen so viele verschiedene nationale und religiöse Interessen vertreten sind wie in Jerusalem. Um so erfreulicher war es für uns, daß unsere Expedition als eine dringende Notwendigkeit von allen Seiten freudig begrüßt wurde und sogleich tatkräftige Unterstützung fand, nicht nur von den Deutschen, sondern auch von Angehörigen aller Nationen und Konfessionen.

Zu unseren eifrigen ständigen Mitarbeitern gehörten bald auch einige Jerusalemer Kollegen, die zunächst an einem Malariakurs in unserem Laboratorium teilnahmen und zu diesem Zweck 2mal wöchentlich abends von 8—11 Uhr zu uns kamen: es waren das die Herren Dr. Cana'an, ein sehr beliebter einheimischer Arzt, Dr. Masterman, leitender Arzt des englischen Missionshospitals, und Dr. Hoffmann, Assistent am deutschen Hospital. Insbesondere Dr. Cana'an und Dr. Masterman haben uns unermüdlich außerordentlich wertvolle Dienste geleistet. Aber auch mit den anderen Aerzten suchten wir die

freundschaftlichsten Beziehungen zu unterhalten. Denn wir waren uns von vornherein bewußt, daß ohne allseitige kollegiale Mitwirkung eine erfolgreiche Arbeit nicht gut denkbar war. Die meisten Kollegen kamen auch sogleich in der ersten Zeit zur Besichtigung unserer Untersuchungsstation hinauf, ebenso wie viele geistliche und weltliche Oberhäupter. Bei solchen Gelegenheiten wurden dann stets kleinere Vorträge über Malaria, ihre Uebertragung und Bekämpfung gehalten, bei denen nicht nur lebende Malariamücken und ihre Larven, sondern auch die vom Hamburger Tropeninstitut mitgebrachten, in Rahmen zusammengestellten schönen Diapositive das Demonstrationsmaterial bildeten. Selbstverständlich wurden jedem Besucher, deren wir auf dem Oelberg viele hunderte hatten, auch Malariaparasiten im Mikroskop demonstriert. Ich erwähne dies alles, um zu zeigen, in welcher Weise wir allgemein belehrend tätig zu sein versuchten. Auf die angedeutete Weise wurden insbesondere auch viele Lehrer, selbst solche von mohammedanischen Schulen, für die Malariafrage interessiert.

Weiterhin suchte ich auch durch größere populäre Vorträge mit Lichtbildern aufklärend zu wirken. So machte ich zunächst im Oelberg-Hospiz einen Demonstrationsabend mit Vortrag für Jerusalemer Kollegen, dann hielt ich einen von über 150 Personen besuchten Vortrag für die Deutschen in Jerusalem, ferner einen weiteren in der Tempel-Kolonie Sarona bei Jaffa. Auch unsere Mitarbeiter Dr. Cana'an und Dr. Masterman hielten Vorträge für Araber und Engländer, zum Teil mit unserem Demonstrationsmaterial. Ich selbst bin noch zu mehreren Vorträgen aufgefordert worden, so noch kurz vor der Rückreise von einem mohammedanischen Schulleiter. — Die Jerusalemer Zeitungen, insbesondere auch die einflußreichste israelitische, brachten sehr wohlwollende Artikel über unsere Expedition.

B. Besonderes [1]).

I. Malaria-Blutuntersuchungen.

Unsere Untersuchungen konnten bereits am 3. Tage nach der Ankunft mit der Entnahme von 256 Blutproben im Syrischen Waisenhaus begonnen werden. Zusammenfassend können wir sagen, daß wir in den meisten Instituten, Wohltätigkeitsanstalten, Krankenhäusern, Schulen etc. aller Nationen und Konfessionen, ferner in den Häusern der verschiedensten Stadtteile selbst gewirkt haben, mit der Einschränkung allerdings, daß nach einer getroffenen Vereinbarung in den rein israelitischen Bezirken Herr Dr. Brünn, der Leiter einer fast gleichzeitig in Jerusalem aufgetretenen amerikanisch-jüdischen Malariaexpedition, untersuchte (s. p. 71).

Auch in der Umgebung Jerusalems, so in Bethlehem, Bethjala, Beth Sahur, Siloah, Ramallah, Hebron, ferner in Jaffa, Sarona und Umgegend wurden Untersuchungen vorgenommen, und selbst aus Jericho erhielten wir durch Herrn Dr. Masterman Blutproben.

Die **Blutentnahmen** erfolgten in der Weise, daß nach feinem Einstich mit ausgeglühter Nadel ins Ohrläppchen einige Tropfen Blut ausgedrückt und auf Objektträger aufgetragen wurden, meist je 1 Tropfen- und 1 Ausstrichpräparat. Die Objektträger waren alle mit fortlaufenden Nummern versehen. Namen und Objektträgerzahlen der Untersuchten

1) Literaturangaben über frühere Untersuchungen in Jerusalem s. p. 71.

wurden dann gleich mit den für die Statistik notwendigen Angaben aufgeschrieben. Die meisten Blutpräparate entnahmen wir selbst; viele aber wurden uns von Aerzten, insbesondere von Dr. Masterman, Dr. Cana'an und Dr. Hoffmann überbracht. Der Transport unserer Blutpräparate geschah in einem nach meinen Angaben von der Firma E. Leitz, Berlin, hergestellten, bequem tragbaren Präparatenkasten (Fig. 1), in dem das Blut auf den Objektträgern in horizontaler Lage gut trocknen konnte. Sämtliche Präparate wurden nach Giemsa gefärbt, wobei die Farbe in destilliertem Wasser mit geringem Alkalizusatz aufgelöst wurde. Die Färbung versagte nie. In den meisten Fällen wurden nur die dicken **Tropfenpräparate** untersucht, in zweifelhaften Fällen auch die Ausstriche, insbesondere zur Feststellung der Malariaart. Im allgemeinen lassen sich ja Tertiana-, Quartana- und Tropicainfektionen in den dicken Tropfenpräparaten unterscheiden, namentlich dann, wenn viele Parasiten in verschiedenen Entwickelungsstadien vorhanden sind. Wenn man aber nur vereinzelte Parasiten, z. B. wenige große Ringe oder Gameten hat, dann ist oft eine sichere Entscheidung der Malariaart aus dem Tropfenpräparat allein unmöglich. Eine Tropicainfektion ist im dicken Tropfen leicht zu diagnostizieren, wenn sehr viele, besonders kleine und mittlere Ringe und eventuell noch Halbmonde vorhanden sind. Tertiana- und Quartanaparasiten, namentlich Gameten, waren mitunter schwieriger zu unterscheiden: im allgemeinen kann man als Regel annehmen, daß die Quartanaparasiten ähnlich wie im Ausstrich kleiner und kompakter aussehen, die größeren Tertianaparasiten erscheinen dagegen sehr häufig wie zerrissen. Die Unterscheidung gelingt in der Regel am besten am Rande der Tropfenpräparate da, wo häufig infolge schnellen Eintrocknens und Fixierens die Blutkörperchen nicht ausgelaugt sind. Dann zeigen die roten Blutkörperchen mit Tertianaparasiten die bekannten Charakteristika, insbesondere auch meist die rötliche Schüffnersche Tüpfelung (s. Tafel I, Fig. 13).

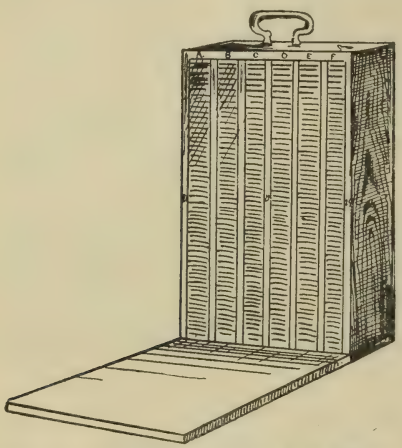


Fig. 1. Präparatenkasten zum Transport von Tropfenpräparaten.

Erwähnt sei, daß wir in sehr vielen Bluttropfenpräparaten, namentlich bei Tropica und Tertiana, ganz enorme Mengen Parasiten fanden, wie ich sie bisher — auch bei Quartana — so zahlreich noch nicht gesehen hatte (Taf. I, Fig. 9—15). In einem einzigen Gesichtsfeld (bei Oelimmersion, Okular 4) konnten nicht selten weit über 200 Parasiten gezählt werden (Taf. I, Fig. 10). Aber nicht nur in solchen, sondern namentlich in den Fällen mit spärlichem Parasitenbefund, hat sich uns die Tropfenmethode wieder außerordentlich gut bewährt[1]). Abgesehen von der großen Zeitersparnis bei Massenunter-

1) Siehe auch Mühlens, P., Malariabekämpfung in Emden. (Beih. 1 zu Bd. 16, Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. 1912. p. 63.

suchungen ist auch die Sicherheit des Resultates bei der Untersuchung der wesentlich größeren konzentrierten Blutmenge ein nicht zu unterschätzender Faktor. Es handelt sich um eine mindestens 20—30-fache „Anreicherung" der Parasiten.

In fast allen Fällen mit Parasiten waren Polychromatophilie und eine ausgesprochene Vermehrung der großen einkernigen Leukocyten festzustellen, in manchen Präparaten auch Basophilie. Dieselben typischen Veränderungen fanden sich auch in vielen Fällen nach überstandener behandelter Malaria und konnten als ein Hilfsmittel für die nachträgliche Wahrscheinlichkeitsdiagnose herangezogen werden. Selbstverständlich galten solche Fälle nicht als positiv.

In unserer Statistik sind nur die Fälle als positiv gezählt, in denen absolut einwandfreie Malariaparasiten festgestellt wurden. Nun soll damit keineswegs behauptet sein, daß in unseren Zahlen sicher alle positiven Fälle unter den Untersuchten gefunden waren. Unsere Prozentzahlen sind vielmehr **Mindest**zahlen, d. h. also: unter den von uns Untersuchten war sicher mindestens die gefundene Anzahl infiziert. Bei der Menge der notwendigen Untersuchungen war selbstverständlich bei nur einmaligem Durchsehen von Präparaten damit zu rechnen, daß hier und da ein chronischer Parasitenträger übersehen wurde, obgleich ich selbst auch die von meinen Assistenten voruntersuchten Präparate, insbesondere auch die negativen, kontrollierte. Wiederholte Untersuchungen in verdächtigen Fällen an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen waren uns meist nicht möglich.

Nebenbei sei erwähnt, daß viele Untersuchte, namentlich Kinder, eine ganz bedeutende Vermehrung der eosinophilen weißen Blutkörperchen zeigten: in Tropfenpräparaten sahen wir nicht selten 10—15 und mehr Eosinophile in einem Gesichtsfeld. Diese Blutabnormität war offenbar mit Darmparasiteninfektion in Zusammenhang zu bringen. Eingehende Nachforschungen in dieser Richtung konnten aber noch nicht gemacht werden. Sehr häufig fiel es uns auf, daß Blutpräparate mit ausgesprochener Eosinophilie relativ selten oder wenig Malariaparasiten enthielten. Damit soll aber keineswegs eine Regel aufgestellt sein; möglich, daß es sich um einen Zufall handelte; immerhin dürfte es sich vielleicht lohnen, hierüber noch einmal genauere Beobachtungen zu machen.

Unsere mit allen wissenswerten Angaben genau fortlaufend geführte Liste zählt 7921 Untersuchungsnummern. Allerdings handelt es sich hierbei nicht um ebensoviele verschiedene Personen; manche (namentlich von den Behandelten) sind mehr als einmal untersucht. Gleichwohl beträgt die Zahl der untersuchten Blutpräparate von verschiedenen Personen weit über 7000, etwa $^1/_{10}$ der Bevölkerung von Jerusalem.

Die Angaben über die Einwohnerzahl von Jerusalem schwanken zwischen 60—80 000. Genaue Volkszählungen liegen nicht vor. Nach Baedeker (Palästina und Syrien 1910, 7. Aufl.) wird die Bevölkerung auf 70 000 Seelen geschätzt: etwa 45 000 Juden, 10 000 Mohammedaner und 15 000 Christen verschiedener Bekenntnisse, von diesen die meisten orthodoxe Griechen und römische Katholiken.

Hier seien auch gleich einige allgemeine Bemerkungen über die Lage der Stadt nach der Darstellung von Prof. Benzinger im Baedeker eingefügt. „Jerusalem liegt unter 41° 46′ nördl. Br. und 35° 13′ östl. L. von Greenw. auf dem halbinselartig von Talsenkungen umschlossenen südlichen Teile eines wasserarmen Kalkplateaus . . . . Auch der Boden der Stadt ist durch verschiedene Senkungen geteilt. Die NW.-Ecke der Stadt erreicht 790 m, der Westhügel 777 m Meereshöhe. Die 12 m hohe, etwa 4 km lange Stadtmauer umschließt die innere alte Stadt, die man in 4 Quartiere einteilen kann: das mohammedanische im NO., das jüdische im SO., das armenische im SW. und das griechisch-fränkische im NW." Die Trennung zwischen diesen Quartieren ist nicht durch scharfe Grenzlinien ausgesprochen. Außerhalb der Stadtmauer befinden sich in der Hauptsache die Europäerniederlassungen und insbesondere eine Anzahl von jüdischen Kolonien: daselbst wohnen die meist von ihren außerhalb Palästinas lebenden Glaubensgenossen unterstützten, zum größten Teil eingewanderten Juden. (S. Fig. 2.)

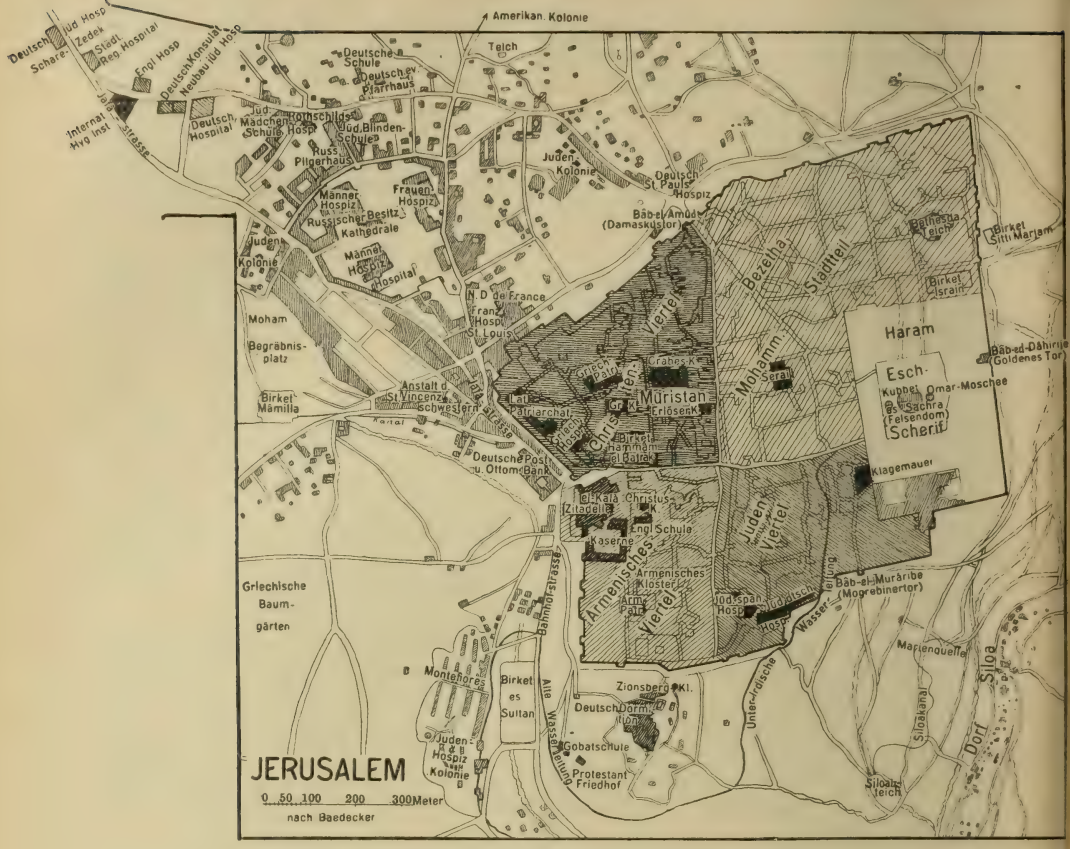


Fig. 2. Stadtplan von Jerusalem, nach Baedeker.

Resultate der Blutuntersuchungen.

Unter den von uns mikroskopierten 7921 Blutproben enthielten 2071 Malariaparasiten, d. h. also 26,1 Proz. der Untersuchten (inkl. Doppeluntersuchungen) waren malariainfiziert. Damit ist nun nicht gleich ohne weiteres die Prozentzahl der Gesamtinfektion der Jerusalemer Bevölkerung überhaupt gegeben. Abgesehen davon, daß es sich, wie schon gesagt, um Mindestzahlen handelt, schwanken vielmehr die Infektionszahlen je nach Stadtteil und Bevölkerungsschicht in weiten Grenzen. Nach unseren Erfahrungen dürfte man wohl als **Mindest**infektionszahlen etwa folgende annehmen: in der inneren Araberstadt in den unhygienischen Stadtteilen 25—40 Proz. sämtlicher Bewohner; in dem innerhalb der Mauer gelegenen Judenviertel wohl mindestens ebensoviel, wahrscheinlich noch mehr; ähnlich so, je nach der Lage, in den außerhalb der Stadtmauer gelegenen jüdischen Kolonieen (Herr Dr. Brünn wird darüber eingehender berichten); in den außerhalb der Stadtmauer gelegenen europäischen Siedelungsbezirken (ohne die eingeborenen Hausangehörigen) 10 bis 25 Proz., in manchen Häusern noch mehr; in Bethlehem 10

bis 20 Proz., in Bethjala und vielleicht auch in Beth Sahur mehr, ähnlich so auch in Ramallah und Umgegend. — In der deutschen Kolonie Sarona bei Jaffa wurden ferner 50 Proz. der untersuchten Eingeborenen infiziert gefunden, in dem in der Nähe befindlichen Araberdorf „Audschee-Mühle" 47,7 Proz., und zwar bei einmaliger Untersuchung.

In Tabelle I sind einige Beispiele der Durchuntersuchungen von größeren zusammengehörigen Gruppen, die für Prozentualberechnungen Wert haben, zusammengestellt (siehe Tabelle p. 10 und 11).

Die in Tabelle I zusammengestellten Daten zeigen zunächst, wie wir bei allen Nationen und Konfessionen untersucht haben. Weiterhin ergeben sich für die Beurteilung des Malariaindex unter den Schulkindern wichtige Anhaltspunkte. Vorausbemerkt sei wiederum, daß es sich um Mindest-Prozentzahlen handelt, da in fast allen Schulen zur Zeit der Untersuchung Kinder fehlten, die meisten offenbar wegen Malaria. (S. auch p. 69.) Der **Prozentsatz** der zur Zeit der einmaligen Untersuchung in Jerusalem infiziert gefundenen Kinder bewegte sich zwischen 0 und 37,4 Proz. Würde man die eventuellen Fehlerquellen ausschließen (s. oben) und sämtliche (auch die fehlenden) Kinder in die Statistik einbeziehen können, dann dürfte die Prozentzahl der infizierten Kinder in manchen Schulen 40—50 Proz. betragen, im Laufe des ganzen Jahres auf Grund wiederholter Untersuchungen berechnet, wahrscheinlich noch mehr. Die geringsten Zahlen weisen einige englische Missionsschulen auf, in denen man sich dauernd die Behandlung aller Kranken sehr angelegen sein ließ. Am stärksten infiziert waren dagegen die Kinder in den israelitischen und in den von den ärmsten Arabern verschiedener Konfessionen besuchten Tagesschulen. Auffallend ist, daß gerade die Mädchenschulen in unserer Statistik die höchsten Infektionszahlen zeigen. Unter den Kontingenten mit über 18 Proz. Positiven ist nur eine reine Knabenschule (mohammedanische konstitutionelle Schule mit 22,2 Proz.). Die Muristanschule mit 26,9 Proz. hat allerdings überwiegend Knaben, aber auch eine Anzahl kleiner Mädchen. Nun muß allerdings zugegeben werden, daß wir ungleich mehr und größere Mädchen- als Knabenschulen untersucht haben und daß wir z. B. den Untersuchungen in der Mädchenschule der Alliance israélite und in der Evelina de Rothschild-Schule keine solch großen von Knaben derselben Bevölkerungsklassen zur Seite stellen können. Vielleicht ergeben sich Parallelzahlen aus der Statistik des Herrn Dr. Brünn.

Im ganzen war uns von 7771 Untersuchten das **Geschlecht** bekannt.
Unter 3930 Personen männlichen Geschlechts hatten 1016 = 25,9 Proz. Parasiten,
unter 3841 Personen weiblichen Geschlechts hatten 1049 = 27,6 Proz. Parasiten.

Weiterhin hatten wir die **Konfession** von 7660 Personen notiert.
Unter 2373 untersuchten Juden hatten 961 = 40,5 Proz. Parasiten,
„ 1619 „ Mohammedanern hatten 504 = 31,1 Proz. Parasiten,
unter 2825 untersuchten eingeborenen Christen hatten 463 = 16,4 Proz. Parasiten,
unter 843 untersuchten christlichen Europäern hatten 61 = 7,2 Proz. Parasiten.

Altersangaben haben wir von 7740 Personen.

Tabelle I.

Infektionszahlen in verschiedenen Bevölkerungsgruppen.

Bevölkerungsgruppe	Zahl der Untersuchten	Zahl der Infizierten	Prozentzahl der Infektionen	Bemerkungen
Deutsche Tempeler-Kolonie „Rephaim", Kinder und Erwachsene	184	6	3,3	
Deutsch. „Syrisches Waisenhaus", Kinder und Erwachsene	383	35	9,1	
Deutsches Mädchenwaisenhaus „Talitha Kumi", meist Kinder	213	40	18,8	
Deutsche kathol. Mädchenschule, Kinder	53	4	7,6	
Deutsches kathol. „St. Pauls Hospiz", Erwachsene	28	1	3,6	
Deutsch-kathol. „Dormitio" auf dem Zion, Erwachsene	14	2	14,3	Beide Kranke waren Eingeborene
Mitglieder der Deutsch-evangel. Gemeinde, Kinder und Erwachsene	86	7	8,1	
Deutsche „Kaiserin Auguste Viktoria-Stiftung" auf dem Oelberg, meist Erwachsene	42	2	4,8	1 Gast u. 1 Eingeb.-Kind
Deutsches Lepraheim „Jesus hilf", Erwachsene	54	—	—	
Eingeborenen-Tagesschule des Deutsch-evang. Jerusalemvereins am Muristan, Knaben und weniger Mädchen	186	50	26,9	
Franz. kathol. Mädchenschule der „Josephsschwestern", Kinder	49	13	26,5	
Franz. Mädchenschule der Alliance israélite, fast alle Kinder	380	142	37,4	
Latein. Patriarchat, Erwachsene	30	1	3,3	
Armenisches Patriarchat, meist Erwachsene	37	2	5,4	
Armenisches Patriarchat, Tagesschule, Kinder	88	13	14,8	
Schwed. Eingebor.-Mädchen-Tagesschule (Leitung: Deutsche Kaiserswerther Schwester)	22	7	31,8	
Insassen des türk. Staatsgefängnisses	149	10	6,7	
Engl. israel. „Evelina de Rothschild School", fast alle Kinder	462	159	34,4	
Engl. „Bischof Gobat Schule", fast alle Kinder	103	3	2,9	
Engl. „London Jews Society girls day-school", Kinder	102	29	28,4	
Engl. „London. J. Soc. boys day-school", Kinder	48	—	—	Unter guter ärztlicher Kontrolle u. Behandlung
Engl. „S. Mary's Home", Mädchenschule	42	3	7,1	
Engl. J. Missionsschule, Kinder (Internat)	41	3	7,3	
Engl. S. George's boy-school	69	9	13	
Engl. „Mission Society girl school", Moham. Mädchenschule	78	20	25,6	
Engl. Augenpoliklinik (Dr. Thomsen), Kinder und Erwachsene	128	15	11,8	Nicht wegen Malaria in ärztl. Behandlung
Türk. moham. Regierungsschule, meist Kinder	152	23	15,1	
Mohamed. Privatschule, Knaben	107	7	5,7	Besser situierte Kinder
Moham. konstitutionelle Schule, Knaben	27	6	22,2	

Bevölkerungsgruppe	Zahl der Untersuchten	Zahl der Infizierten	Prozentzahl der Infektionen	Bemerkungen
Deutsche Eingebor.-Schule in Bethlehem, unterhalten vom Jerusalemverein, Kinder	166	20	12	
Deutsch. Syrisches Waisenhaus in Bethlehem (Jerusalemverein), meist Kinder	43	1	2,3	
Griech. Eingeborenen-Mädchenschule in Bethlehem	42	2	4,8	
Griech. Eingebor.-Knabenschule in Bethlehem	102	6	5,9	
Griech. Schule in Bet-Sahur, meist Kinder	30	2	6,7	
Latein. Schule in Bet-Sahur	33	3	9,9	
Deutsch-prot. Schule Bet-Sahur (Jerusalemverein), darunter Familien	84	14	16,7	
Ital. Kloster „Don Beloni“	10	1	10	
Deutsche Tempeler-Kolonie „Sarona“ bei Jaffa, nur Deutsche	169	22	13	
Deutsche Tempeler-Kolonie „Sarona“ bei Jaffa, nur Eingeborene	70	35	50	
Arab. Eingeb.-Dorf „Audschee-Mühle“ bei Sarona, nur Eingeborene	44	21	47,7	
Deutsche Kinderschule in Jaffa	67	1	1,5	

Von 3114 Erwachsenen über 14 Jahren hatten 719 Parasiten = 23,1 Proz.

Von 4626 Kindern bis einschließlich 14 Jahre hatten 1263 Parasiten = 27,3 Proz.

Der jüngste Kranke war ein 8 Tage altes Mohammedanerkind mit einzelnen großen Tropicaringen und sehr vielen Halbmonden, woraus man auf eine ererbte Malaria schließen könnte. Das zweitjüngste mohammedanische Malariakind (10 Tage alt) hatte auch Tropicaparasiten, einzelne Ringe und Halbmonde. Der älteste Patient war ein 90-jähr. Araber mit Quartanagameten.

Unter 1989 Personen mit Parasiten, von denen die Konfession uns angegeben wurde, waren also 961 Juden, 967 Araber (und zwar 504 mohammedanische und 463 christliche) sowie 61 europäische Christen. Unsere verhältnismäßig große Zahl von malariakranken **Juden** kommt — abgesehen von den vielen Kranken in den beiden untersuchten großen Schulen — hauptsächlich daher, daß unser Mitarbeiter Dr. Masterman uns sehr viele Blutpräparate von Juden übersandte. Aus seinem Hospital und seinen Polikliniken haben wir allein ca. 1000 Juden untersucht, allerdings fast nur Kranke mit Fieber oder Fieberverdacht, von denen 50—70 Proz. Malariaparasiten in ihrem Blute hatten. Aehnliche Prozentzahlen, wenn auch nicht immer so hohe, hatten wir auch bei den Untersuchungen von Kranken in anderen Hospitälern und Polikliniken, wenn wir nur von den Leuten Blut entnahmen, die Angaben über irgendwelche Fiebererscheinungen machten, so z. B. insbesondere in der arabischen Poliklinik (Dr. Cana'an), ferner in der russischen (Dr. Severin), deutschen (Dr. Grussendorf), armenischen (San.-Rat Dr. Einsler), türkischen (Dr. Photios), griechischen (Dr. Spyridon) sowie in der österreichischen Poliklinik des Malteserklosters Tantur bei Bethlehem, ferner auch in den entsprechenden Hospitälern, endlich auch z. B. aus der Praxis des Herrn Dr. Malouf (Ramallah).

Allgemein kann man also sagen, daß von den in den **Polikliniken und Hospitälern** in Behandlung kommenden „Fiebern“ **60—80 Proz.** Malariaerkrankungen sind.

Dasselbe gilt, vielleicht in etwas geringerem Prozentsatz, von der Privatpraxis der Jerusalemer Aerzte. Manche Malariakranke gehen allerdings nicht in ärztliche Behandlung, da sie sich Chinin kaufen und sich selbst behandeln können.

Der Senior der Jerusalemer Aerzte, Herr Sanitätsrat Dr. Einsler, der seit 40 Jahren in Palästina ist, sagte uns, daß die Malaria in Jerusalem eher zu- als abgenommen habe.

Die Zahlen unserer Untersuchungen und der dabei gefundenen Infizierten verteilen sich nach **Monaten** in der in Tabelle II erkennbaren Weise.

Tabelle II.

Verhältnis der Malariaarten in den verschiedenen Monaten.

Monat	Gesamtzahl der Untersuchten	Gesamtzahl der Infizierten	Von den Infizierten hatten			Mehrfache Infektionen
			Mal. tropica	Mal. tertiana	Mal. quartana	
Sept. 1912	2655	465 (17,5 Proz.)	204 (43,9 Proz.)	189 (40,6 Proz.)	58 (12,5 Proz.)	14 (3 Proz.)
Okt.	2791	781 (27,9 Proz.)	350 (44,8 Proz.)	252 (32,3 Proz.)	151 (19,3 Proz.)	28 (3,6 Proz.)
Nov.	1498	517 (34,5 Proz.)	293 (56,7 Proz.)	117 (22,6 Proz.)	95 (18,4 Proz.)	12 (2,3 Proz.)
Dez.	466	161 (34,5 Proz.)	76 (47,2 Proz.)	17 (10,6 Proz.)	55 (34,2 Proz.)	13 (8,1 Proz.)
Jan. 1913	511	147 (28,2 Proz.)	65 (44,2 Proz.)	18 (12,3 Proz.)	58 (39,5 Proz.)	6 (4,1 Proz.)
Im ganzen	7921	2071 (26,1 Proz.)	988 (47,7 Proz.)	593 (28,6 Proz.)	417 (20,1 Proz.)	73 (3,5 Proz.)

Anmerkung: Die Prozentzahlen in den Rubriken 4—7 bedeuten den Prozentsatz im Vergleich mit der Gesamtzahl der Infizierten.

Diesen Zahlen kann man allerdings nicht allzuviel statistische Bedeutung bezüglich der Häufigkeit der Malaria in den einzelnen Monaten beimessen; denn im September wurden mehr größere zusammengehörige Bevölkerungsgruppen ohne Rücksicht auf Fieber untersucht, in den späteren, namentlich auch in den letzten Monaten wurden weniger solche Gruppen, als vielmehr Kranke und Krankheitsverdächtige untersucht. So ergeben sich für Dezember und Januar verhältnismäßig hohe Zahlen, für September und Oktober geringere.

Ohne Zweifel waren während unseres Aufenthaltes in Jerusalem die Monate September bis November die Hauptmalariamonate. Die eigentliche Malariazeit scheint im Juli zu beginnen. Unsere Zahlen zeigen jedoch auch, daß in den „Wintermonaten“ nach Beginn der Regenzeit noch eine ganze Anzahl von Malariafällen zur Beobachtung kommen, und zwar nicht nur Rückfälle, sondern auch anscheinend sichere Neuerkrankungen.

Offen gestanden hatte ich für Dezember und Januar andere Parasitenbilder in den mikroskopischen Präparaten erwartet, als wir sie in der Regel sahen. Vor allen Dingen fiel auf, daß die Zahl der

Geschlechtsformen, der Halbmonde, bei der Malaria tropica unverhältnismäßig geringer in den Monaten Dezember und Januar wurde. Vorher hatten wir nicht selten Tropfenpräparate, in denen in jedem Gesichtsfeld mehrere, mitunter bis 15 Halbmonde in einem Gesichtsfeld gezählt wurden (s. Taf. I, Fig. 15). Im Dezember und Januar enthielten sehr viele Tropica-Präparate überhaupt keine Halbmonde. Eine Erklärung hierfür habe ich noch nicht gefunden. Bei den beiden anderen Malariaarten dagegen wurden fast stets im Dezember und Januar neben Schizonten auch Gameten gefunden.

Auffallend war noch eine andere Feststellung: Das **Verhältnis der Malariaarten** zueinander verschob sich namentlich im Dezember und Januar bedeutend, und zwar insbesondere zuungunsten der Tertiana und zugunsten der Quartana, deren Verhältniszahl in der Winterzeit bedeutend zunahm, wie sich aus Tabelle II und Fig. 3 ergibt. Vielleicht ist die relative Quartanazunahme durch die größere Neigung der Quartana zu Rückfällen zu erklären. Günstigere Entwickelungsbedingungen für Quartanaparasiten in den Anophelen nach Eintritt der kühleren Witterung anzunehmen, dürfte schwerlich möglich sein. Immerhin fiel auch noch weiter auf, daß in vielen Quartanapräparaten im Dezember und Januar die Parasiten in für Quartana ganz ungewöhnlichen Mengen, darunter insbesondere viele wunderschöne Teilungsformen, vorhanden waren (s. Taf. I, Fig. 9 u. 11). Auffallend ist im Gegensatz hierzu die ganz bedeutende Abnahme der Tertianafälle im Dezember und Januar.

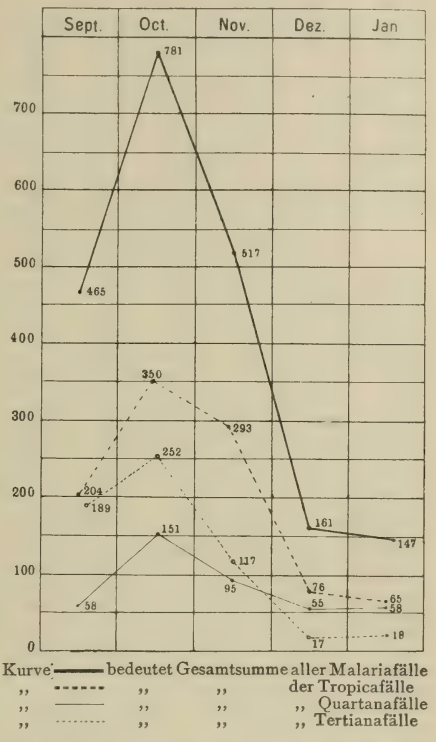


Fig. 3. Verteilung der Malariaarten auf die einzelnen Monate.

Im ganzen handelte es sich bei unseren 2071 positiven Fällen:

988mal (47,7 Proz.) um Malaria tropica;
593 „ (28,6 „) „ „ tertiana;
417 „ (20,1 „) „ „ quartana;
71 „ (3,4 „) „ Doppelinfektionen;
2 „ (0,1 „) „ 3-fache Infektionen.

Die Doppelinfektionen waren (unter Voranstellung der mutmaßlichen Hauptinfektion) folgende:

14mal Malaria tropica + Malaria tertiana;
28 „ „ tertiana + „ tropica;
17 „ „ tropica + „ quartana;
8 „ „ quartana + „ tropica;
2 „ „ tertiana + „ quartana;
2 „ „ quartana + „ tertiana.

Bei den 3-fachen Infektionen handelte es sich um ein 4-jähriges Mädchen mit Quartana als Hauptinfektion und um einen 2-jährigen Jungen mit Tertiana als Hauptinfektion. Beide hatten enorm viele Parasiten.

II. Klinische Beobachtungen und Schwarzwasserfieber.

Zu eingehenden fortlaufenden klinischen Beobachtungen blieb uns keine Zeit. Doch hatten wir häufig Gelegenheit, die in den Hospitälern behandelten Fälle zu sehen und zu untersuchen.

Die Temperaturkurven boten teils je nach Infektion die typischen Bilder von Tertiana simplex, Tertiana duplicata, Quartana simplex, Quartana duplicata, Quartana triplicata und Tropica. In vielen Fällen ließ sich aber aus der Temperaturkurve keine Diagnose stellen, in anderen bestand überhaupt kein Fieber, oder es waren nur subfebrile Temperaturen festzustellen, trotzdem im Blute sehr reichlich Parasiten: Schizonten und Gameten vorhanden waren. Dr. Masterman hatte in seinem Hospital eine ganze Reihe solcher Fälle gesehen. Allerdings waren diese und ähnliche Beobachtungen nicht ganz einwandfrei, weil keine Nachttemperaturen gemessen wurden. Es können ja — wenn auch seltener — des Nachts Anfälle erfolgen. Bekanntlich ist das Bild einer Malariakurve häufig total verändert, wenn man regelmäßig zweistündlich tags und nachts mißt.

Im allgemeinen verläuft die Jerusalemer Malaria zurzeit nicht so bösartig wie das Wechselfieber in manchen echt tropischen Ländern. Todesfälle an Malaria selbst sind bei Erwachsenen relativ selten. Zweifellos gehen aber eine Anzahl Kinder in frühester Jugend an der Krankheit oder ihren Folgen und Komplikationen zugrunde, zumal da der Ernährungszustand unter der ärmsten Bevölkerung ein sehr schlechter ist. Ich sah wiederholt Kinder, die sozusagen nur noch aus Haut und Knochen bestanden, zum Teil mit sehr großen Milzen und enormen Parasitenmengen, mitunter 2 Arten in allen Entwickelungsstadien. Andere Kinder hatten auch viele Parasiten, sahen dabei aber relativ gut aus. Gerade bei den systematischen Massenuntersuchungen wurde eine ganze Anzahl sogenannter „Parasitenträger“ ohne wesentliche klinische Erscheinungen gefunden. Sie wären ohne Blutuntersuchung nicht erkannt worden. Von den ermittelten Parasitenträgern gaben auch viele an, daß sie kein Fieber gehabt hätten. Da aber derartige Angaben nicht immer zuverlässig sind, so will ich hierüber keine statistischen Daten mitteilen.

Viele Kranke und Parasitenträger fielen gleich durch die charakteristische grau-gelbliche Gesichtsfarbe auf.

Systematische Milzpalpationen zur Feststellung des „Milzindex“ habe ich nicht vorgenommen. Die Milz war keineswegs immer stark geschwollen; nicht selten konnte man sie trotz starker Infektion nur eben unter dem Rippenbogen fühlen. Inbesondere machte bei Erwachsenen mitunter der Nachweis einer Milzschwellung Schwierigkeiten. Andererseits sahen wir bisweilen bei Kindern und auch bei Erwachsenen ganz kolossale Milzvergrößerungen, ohne daß Malariaparasiten nachgewiesen werden konnten. Ob es sich in solchen Fällen um eine chronische latente Malaria oder um Malariakachexie handelte, oder ob die Milzschwellung durch andere Ursache bedingt war (Pseudoleukämie, Kala-Azar?) steht noch nicht fest (s. p. 63).

Die Diagnose und Behandlung geschah bisher lediglich auf Grund des klinischen Befundes. Daß dabei auch eine Anzahl anderer Krankheiten als „Malaria“ mitbehandelt wurde, ließ sich nicht vermeiden. Die Differenzierung ist ja häufig nur durch mikroskopische bzw. bakteriologische Untersuchung möglich.

Das Haupttherapeutikum war — wie nicht anders zu erwarten — Chinin, und zwar häufiger Chinin. sulfuricum als das zuverlässigere, allerdings kostspieligere Chinin. hydrochloricum. Schokoladenchinin kam bei Kindern in Anwendung. Auch Chininjektionen wurden in schweren und hartnäckigen Fällen gemacht. Manche Kollegen lobten das prompte Resultat der Injektionen sehr, insbesondere wurden auch mit dem von uns einigen Kollegen zur Verfügung gestellten Urethanchinin gute Resultate gesehen. — Die meisten Kollegen schritten in sehr hartnäckigen Fällen zur Methylenblau- oder Arsen-, einige auch zur Salvarsanbehandlung.

Die Methoden der Chininanwendung waren sehr verschieden. Fast ein jeder Arzt hatte seine eigene Methode. Monatelange regelrechte **Nach**behandlung mit genügend großen Dosen wurde nur selten durchgeführt, woran zum Teil wohl die unstäten Patienten schuld sind, die, wenn sie sich besser fühlen, sich nicht mehr sehen lassen. Aber sie kommen auch häufig nicht mehr zurück, wenn das Befinden sich nicht bessert oder verschlimmert. Dann gehts zu einem anderen Arzt oder gar zu einem Naturheilkünstler, Zauberer oder drgl. Eine Folge der unzweckmäßigen, nicht-systematischen Behandlung sind die so zahlreichen Rückfälle und chronisch Kranken, ferner Blutarmut und Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit gegen andere Krankheiten. Auch die sogenannten „Parasitenträger“ mit den Geschlechtsformen (Gameten) im Blute werden durch ungenügende Behandlung künstlich großgezüchtet, namentlich bei der sogenannten **Selbstbehandlung.** Wie in allen Malarialändern, so gibt es auch in Jerusalem gerade unter der intelligenten Bevölkerung eine Anzahl Leute, die jedes Unwohlsein als „Malaria“ ansehen und ohne ärztlichen Rat selbst mit Chinin behandeln. Chinin gehört zum Haushalt: beim Auftreten von Kopf- oder sonstigen Schmerzen, leichten Fiebern wird gleich Chinin genommen, und wenn dann (nach einer häufig kleinen Gabe) gleich Besserung eintritt, so beweist das in den Augen vieler Leute, daß es sich um „Malaria“ gehandelt hatte!

Gegen diese Methoden der Selbstbehandlung, überhaupt allgemein gegen die unregelmäßigen, kleinen, verzettelten Chinindosen muß auch in Jerusalem entschieden Front gemacht werden. Sie nützen nicht nur nicht, sondern schaden viel eher. Zu den durch solche Chininverabreichung hervorgerufenen Schäden gehören außer der Großzüchtung von Parasitenträgern die Herbeiführung der Disposition zu Schwarzwasserfieber sowie eventuell die Schaffung von **chininfesten Stämmen.**

Daß es chininresistente Malaria gibt, ist allgemein bekannt. Auch in Jerusalem sah ich Fälle, die der Chininbehandlung, selbst der energischen, konsequenten einen hartnäckigen Widerstand entgegensetzten. Inbesondere waren es einige Quartanafälle, aber auch einzelne Tropicainfektionen, in denen nicht nur die Gameten, sondern auch die Schizonten ungewöhnlich lange der Chininbehandlung mit den regelrechten, „genügend großen“ Dosen trotzten. Die Tertiana reagierte dagegen fast stets in den von uns beobachteten Fällen prompt auf Chinin. Auch waren die Tertianarückfälle seltener. Wir können das schon daraus schließen, daß in den Wintermonaten Dezember und Januar die Malaria tertiana im umgekehrten Verhältnis zur Malaria quartana recht selten wurde, jedenfalls soweit es sich aus unserer Statistik beurteilen läßt (s. Fig. 3).

Schwarzwasserfieber (Hämoglobinurie) im Gefolge der Malaria war in früheren Jahren häufiger als in neuerer Zeit. So z. B. gingen in der Deutschen Tempeler-Kolonie Sarona in der ersten Zeit des Bestehens in den 1870er und 1880er Jahren manche braven Württemberger an Schwarzwasserfieber zugrunde. Auch in Jerusalem selbst, ferner in den jüdischen Kolonieen und auch in anderen Gegenden Palästinas ist seit langer Zeit Hämoglobinurie beobachtet und gefürchtet. Während unseres 5-monatigen Aufenthaltes in Palästina habe ich nur 4 Schwarzwasserfieberfälle gesehen und von zwei weiteren gehört.

Einer der letzteren betraf eine junge Frau aus der Deutschen Tempeler-Kolonie Wilhelma bei Lydda, die nach einem Besuch in Sarona erkrankte und in wenigen Tagen starb; der andere war von Dr. Cana'an in Jerusalem behandelt.

Von den 4 übrigen Fällen verlief nur noch einer bei einem ca. 30 Jahre alten Juden in der Kolonie Beth Israel am 28. Okt. 1912 tödlich. Zusammen mit Dr. Einsler, Dr. Wallach und Dr. Abuschdid sah ich den Kranken abends in seiner Wohnung in moribundem Zustand. Er hatte mehrere Chininjektionen, auch nach Eintritt der Erkrankung bekommen. Die in der Nacht im Krankenhaus auf meinen Rat vorgenommenen Kochsalz-Digitalisinfusionen konnten den Kranken, der am Tage nur ganz wenig dunkelroten Urin entleert hatte, nicht mehr retten. Vor 8 Jahren hatte der Mann schon einmal an Schwarzwasserfieber gelitten (Dr. Einsler).

Die 3 anderen Fälle bei 2 Erwachsenen und einem jüdischen Kinde verliefen bei Kochsalzinfusions-Behandlung ohne weitere Chiningaben günstig. Am leichtesten war die Erkrankung des Kindes, das ich am 31. Dez. im Hospital Schare Zedek (Dr. Wallach) sah. Im Blut keine Malariaparasiten, dagegen starke Anämieerscheinungen und relative Vermehrung der mononukleären Leukocyten. — Ein mittelschwerer Fall bei einem Juden in mittleren Jahren, zu dem ich von Herrn Dr. Ségal Mitte November zur Konsultation gebeten wurde, stammte auch aus Jerusalem; Wohnung in der Nähe der Jaffastraße.

Der letzte, ziemlich schwere Fall endlich betraf ein kräftiges 16-jähriges Fräulein in Sarona, das am 23. Sept. 1912 als erste diesjährige Hämoglobinurie-Patientin zufällig am Tage meines ersten Besuches in Sarona am 23. Sept. erkrankt war. Herr Kollege Lorch (Jaffa) nahm mich schon morgens 6 Uhr mit zu der Patientin, die einen typischen akuten Anfall seit über 12 Stunden hatte. Die Patientin hatte in den letzten Tagen angestrengt gearbeitet und am 21. und 22. Sept. wegen leichten Unwohlseins je $^1/_2$ g Chinin genommen. Im Blut nur Anämiezeichen, keine Malariaparasiten. Im Verlaufe des Tages Urinverhaltung, daher abends Aufnahme ins Hospital in Jaffa: 2-stündliche Kochsalzinfusionen, Digitalis, guter Verlauf. Ich habe seitdem die Rekonvaleszentin wiederholt in Sarona gesehen; sie hatte sich gut erholt und sah blühend aus. Bei einer Nachuntersuchung hatte sie keine Malariaparasiten.

Die sämtlichen von mir gesehenen Schwarzwasserfieberfälle waren in unmittelbarem Anschluß an eine — wahrscheinlich unzweckmäßig — genommene Chinindosis entstanden.

Die Krankheitssymptome waren in allen Fällen typisch; Frost, Erbrechen, Fieber, Ikterus, Hämoglobinurie, in dem zweiten, deletären Falle auch starker, anhaltender Singultus.

III. Anophelesmücken und ihre Brutstätten im Zusammenhange mit der Wasserversorgung Jerusalems.

Die Ueberträger der Malaria, die Anophelen, sind in Jerusalem allenthalben zu finden, stellenweise sogar sehr zahlreich. Die von mir an Herrn Prof. Eysell, Kassel, eingesandten Exemplare wurden als Anopheles bifurcatus bestimmt. Ich fand nur immer diese selbe Anopheles-Art in Jerusalem. Culexmücken sind auch sehr zahlreich, insbesondere Culex pipiens. Auch sah ich einige andere Culex-Arten und vereinzelt eine Stegomyien-Art, die noch nicht genau bestimmt sind.

Die ersten Anophelen wurden in Jerusalem anscheinend von Dr. Masterman und Dr. Wheeler im Jahre 1903 in Zisternen und Judenhäusern erkannt (s. Cropper, Journ. of Hyg. 1905). — Cropper hat im Jahre 1905 berichtet, daß er in Jerusalem nur Anopheles maculipennis gefunden habe (Journ. of Hyg. 1905. p. 465: "the only species is Anopheles maculipennis"). — Herr Dr. Beham gab mir kürzlich Anophelen (übersandt von Dr. Yofé) aus Atlith bei Haifa, die Herr Prof. Eysell (Cassel) sämtlich als Anopheles maculipennis bestimmte. — Ich selbst habe in Jerusalem niemals Anopheles maculipennis gesehen.

Die Lebensweise und Existenzbedingungen der Mücken sind aufs engste mit der

Wasserversorgung Jerusalems[1])

verknüpft. Eine brauchbare Wasserleitung gibt es noch nicht.

Die alte Salomonische Wasserleitung, die von den hinter Bethlehem gelegenen Salomonischen Teichen (Taf. IV, Fig. 13) ausging, ist in ihrer Anlage noch zu erkennen. Auch wird an der Endigungsstelle noch Wasser entnommen. Die Leitung ist aber nicht mehr einwandfrei und kommt, so wie sie jetzt ist, für eine gemeinsame Wasserversorgung nicht in Frage, zumal da die Salomonischen Teiche in ihrem jetzigen Zustand den Wasserbedarf lange nicht decken können. Auch die wenigen in und um Jerusalem vorhandenen Quellen liefern einzeln nicht genug Wasser, um den ganzen Bedarf der Stadt zu decken. Bei der Anlage einer zentralen Wasserversorgung sind also größere technische Arbeiten auszuführen; die dabei entstehenden Schwierigkeiten sind aber keineswegs unüberwindbar. Da vorläufig noch keine Aussicht auf eine Förderung der Wasserleitungsfrage vorhanden ist, so dürfte es überflüssig sein, die verschiedenen, von uns erwogenen Projekte hier zu erörtern.

Bis auf weiteres muß man sich mit der gegenwärtigen Wasserversorgung, dem Zisternensystem, abfinden. Der Wasserbedarf der Jerusalemer Bevölkerung wird zum größten Teil durch Regenwasser gedeckt, das während der 5—6 Monate Regenzeit (November—April) von Dächern, Straßen etc. in Zisternen gesammelt wird. Die folgenden Monate sind in der Regel vollkommen regenfrei, höchstens gibt es anfangs Mai und Ende Oktober ganz vereinzelte Regentage. Prof. Benzinger, ein alter Jerusalemer Forscher und guter Kenner der dortigen Verhältnisse, gibt[2]) die folgenden Durchschnittszahlen an:

---

1) E. W. G. Masterman [The water supply of Jerusalem ancient and modern (In: The biblical world)] hat eine gute Zusammenstellung der Wasserversorgungspläne gegeben.

2) Baedeker, K., Palästina und Syrien, 1910.

Januar	11,9	Regentage, Temperaturmittel	7° C,
Februar	10,5	„ „	9,1° „
März	8,9	„ „	10,5° „
April	5,1	„ „	15,2° „
Mai	1,6	„ „	18,9° „
Juni	0,1	„ „	21,3° „
Juli	—	„ „	22,9° „
August	—	„ „	22,9° „
September	—	„ „	21,5° „
Oktober	1,6	„ „	19,2° „
November	6,4	„ „	13,4° „
Dezember	9,8	„ „	8,8° „

Die mittlere Jahrestemperatur beträgt 15,9° C, die höchste beobachtete 44,4° C (August 1881); die niedrigste —4° C (Januar 1864). Leichte Fröste und Schnee kommen vor, sind aber nicht allzu häufig. Die Temperaturen schwanken wie im subtropischen Höhenklima mitunter ganz bedeutend an ein und demselben Tage, im Sommer durchschnittlich um 12,95° C, im Winter um 8,7° C. Die nächtlichen Abkühlungen nach den heißen trockenen Sommertagen werden sehr angenehm empfunden. Insbesondere ist es in dem Oelberghospiz durch ziemlich regelmäßige Abendwinde meist angenehm, manchmal sogar unangenehm kühl.

Die gesamte mittlere Regenzeit für Jerusalem dauert 192,2 Tage (längste 227, kürzeste 126 Tage). In diesem Zeitraum regnet es aber nicht täglich, sondern auf einen oder mehrere Regentage folgen immer wieder einige, manchmal 8—10 und mehr schöne, trockene Tage, die dann in der kühlen Jahreszeit, wenn in und um Jerusalem alles zu grünen und zu blühen anfängt, zu den schönsten Tagen des Jahres zählen. Die mittlere Zahl der Regentage beträgt nach obiger Zusammenstellung: 55,9 Tage. Die mittlere Niederschlagsmenge beträgt 661,8 mm. (In Deutschland ca. 500 mm, in Kamerun bis 4000 mm.) Durchweg sind die Regengüsse heftiger als bei uns. Der „Palestine exploration fund" hat die Regenmengen seit dem Jahre 1861 in der folgenden Kurve zusammengestellt:

Fig. 4. Regenfallkurve in Jerusalem. Palestine exploration fund.

Ob und inwieweit die in der Regenzeit entstehenden größeren und kleineren Wasseransammlungen, Tümpel, wassergefüllte Konservenbüchsen etc. als Anopheles-Brutstätten in Frage kommen, konnte ich nicht mehr beobachten. Nur einmal habe ich in einem offenen, kleinen Wasserbassin in einem Garten neben unserem Institut noch in der kältesten Jahreszeit (Dezember) Anopheleslarven ziemlich zahlreich gesehen. In einem größeren Gartenbassin im sogenannten „Stadtgarten" waren zur selben Zeit viele Culex-Larven. In den großen Teichen, die auch im Sommer zum Teil — wenn auch weniger — Wasser haben, konnte ich keine Anopheles-Larven feststellen, so insbesondere nicht im Mamillateich in Jerusalem, in den Salomonischen Teichen bei Bethlehem (Taf. IV, Fig. 13), in den großen Teichen in der Stadt Hebron (Taf. IV, Fig. 14) u. a.

Dagegen fanden sich die Larven in sehr vielen Zisternen, und zwar vorwiegend häufiger und zahlreicher in den sogenannten „Landwasser"-Zisternen, in die „Straßenwasser" hineinläuft, in denen das Wasser also schmutziger ist und offenbar mehr organische Substanzen enthält als in den Dachwasserzisternen. Die Europäer benutzen das Wasser aus den ersteren nur als Gebrauchswasser, nicht als Trinkwasser; die Eingeborenen aber trinken es auch nicht selten.

Der Wasserbedarf mancher Araber ist enorm. Wiederholt konnte ich beobachten, daß sie einen ganzen Eimer voll austranken (Taf. III, Fig. 10): Dabei kommt es weniger auf die Qualität als auf die Quantität des Wassers an.

Während in den meisten, namentlich den neueren Europäerhäusern, sehr große Sorgfalt auf eine gute saubere, möglichst einwandfreie Zisternenanlage verwendet ist, findet man in vielen armen Araber- und Judenhäusern zum Teil ganz unglaubliche Zustände. — Herr Dr. Brünn wird über die diesbezüglichen Verhältnisse in der jüdischen Kolonie berichten.

Ich selbst habe mich dem Studium der Zisternen, die für die Malaria so außerordentliche Bedeutung haben, auch sehr eingehend gewidmet. Meine photographische Sammlung von ca. 40 verschiedenen Zisternentypen zeigt, daß fast keine Zisterne genau so angelegt ist wie die andere: Man findet z. B. sehr interessante alte, aus der Römerzeit stammende kleine Zisternen, zum Teil frühere Grabhöhlen, sogenannte „Grabeszisternen" (Taf. II, Fig. 2), ferner sogenannte „Flaschenzisternen" (Taf. II, Fig. 1) neben ganz modernen, teils im Freien, teils unter den Häusern eingebauten großen Wasserreservoirs (Taf. I, Fig. 3 u. 4). Dazwischen gibt es Uebergangsstadien in verschiedenster Form, Größe und Alter. Fast jedes Haus hat eine oder mehrere Zisternen. So befinden sich z. B. auf dem Terrain der „Kaiserin Auguste Viktoria-Stiftung" auf dem Oelberg allein mehr als 10, fast alle größere Zisternen. Im ganzen dürfte die Zahl sämtlicher Zisternen in Jerusalem mindestens 5000—6000, vielleicht noch mehr betragen. Die größten, wahre Riesenzisternen, befinden sich unter dem Tempelplatz (Taf. II, Fig. 11). Sie dienen hauptsächlich als Reserve, wenn in der Stadt das Wasser knapp wird.

Da die meisten Zisternen auch in der Trockenzeit nicht ganz leer werden, so ist für die Anophelen reichlich Gelegenheit zur Eiablage und zur Brutentwickelung vorhanden, und die wird natürlich von diesen Insekten auch ausgenutzt, jedenfalls in vielen ihnen anscheinend gut behagenden Zisternen, wie schon gesagt, insbesondere in „Land-

wasserzisternen". In manchen Zisternen, sowohl außerhalb der Mauern, z. B. in der Tempeler-Kolonie Rephaim, als auch in der inneren Araberstadt in ganz alten Zisternen fand ich die Larven und Puppen der Anophelen und häufig auch der Culex-Mücken in mehr oder minder großer Menge, mitunter sehr zahlreich derart, daß wir z. B. in bestimmten Zisternen uns leicht unser Material für Studien und Demonstrationen holen konnten. Es gelang uns auch, die Larven bis zur Puppenentwickelung und zum Ausschlüpfen zu bringen, wobei immer dieselbe schon genannte Anopheles-Art resultierte.

Auch die geflügelten Anophelen scheinen sich am Tage gern in Zisternen aufzuhalten; in vielen Zisternen konnten wir zahlreiche Anophelen feststellen, die beim Oeffnen und nach Aufscheuchen in Menge herauskamen, so namentlich in manchen Zisternen der Araberstadt. Aber auch selbst auf dem Oelberg waren Anophelen und ihre Larven, nicht nur in neueren modernen Zisternen zahlreich vorhanden, sondern sie fanden sich auch in einigen älteren Landwasserzisternen am Oelbergabhang (nach dem Toten Meer hin), die vollkommen im Freien lagen und aus denen zum Teil weitabwohnende Fellachenfrauen gegen Ende der Trockenzeit das Wasser holten. Gerade diesen alten Zisternen verdankte offenbar die Kaiserin Auguste Viktoria-Stiftung eine Anzahl Anophelen, die namentlich bei Ostwind zu bemerken waren, und die sich am Tage zum Teil auch in dem am Gartenrand angelegten Pinienwäldchen aufhielten. Aber auch in den Wohnräumen bemerkte man am Tage Anophelen und was das Unangenehmste dabei war, sie stachen auch zu allen **Tages**stunden, wie ich im Laboratorium an mir selbst wiederholt beobachten konnte. Gegen Abend allerdings wurden sie noch viel stechlustiger. Oft, wenn wir am Tage in unseren Laboratoriumsräumen keine Mücke bemerkt oder gesehen hatten, kamen sie abends aus irgendwelchen dunklen Schlupfwinkeln zum Vorschein. Auch in anderen Europäerhäusern in der Stadt sah ich wiederholt Anophelen, ferner in Hospizen, Schulen u. dgl. Kurz: Man findet diese Mücke bei intensivem Suchen in den meisten Häusern, am zahlreichsten aber wohl in den dunklen schmutzigen Eingeborenenbehausungen in der inneren Stadt, ferner in dunklen Gängen in der alten Stadt und zum Teil auch in Ställen; Ziegenställe gibt es eine ganze Anzahl auch in den Häusern der Stadt.

Interessant waren Beobachtungen in Hebron: Daselbst kommt Malaria vor, wenn auch nicht so zahlreich wie in Jerusalem. Ein dortiger Kollege sagte mir, daß er noch keine Anophelen habe finden können. Wir gingen daher auf die Suche. In verschiedenen Wohnungen, selbst in dunklen schmutzigen, im Judenviertel, fanden wir in der Tat keine. Schließlich trafen wir aber auf eine alte sehr große Zisterne mit einem mannshohen seitlichen Eingang (Taf. III, Fig. 9). Da die Zisterne nur noch wenig Wasser hatte, so konnten wir auf einer breiten Treppe hinuntersteigen. Nicht nur fanden wir unten im Wasser sehr zahlreiche Anopheleslarven, sondern es saßen auch an den Zisternenwänden viele geflügelte Mücken, die uns bald umschwärmten und zu stechen versuchten.

Wo und wie die Anophelen überwintern, ob sie eventuell in der Regenzeit im Larvenstadium sich in den Zisternen oder sonstwo in Mengen aufhalten, konnte ich nicht mehr nachweisen.

Nach allen meinen bisherigen Beobachtungen glaube ich aber vermuten zu können, daß auch in der Winterzeit die Zisternen vielleicht überwiegend die Schlupfwinkel der Anophelen bilden.

In der deutschen Tempeler-Kolonie Sarona bei Jaffa sahen wir zur Zeit der Untersuchung im Oktober nur wenige geflügelte Anophelen in einigen Schlafräumen und in Rinderställen. Brutplätze mit Larven waren trotz eifrigen Suchens in der Nähe der Häuser nicht nachzuweisen. Dagegen fand ich sehr zahlreiche Anopheles- und auch Culex-Larven in einem kleinen versteckt gelegenen Tümpelchen (Taf. V, Fig. 17) in der Nähe des ca. 800 m entfernten „Wadis", einer häufig überschwemmten Sumpfniederung. In dieser selbst, für deren Trockenlegung (Taf. V, Fig. 18) die Bewohner von Sarona ca. 10 000 frcs. gebraucht haben, fand ich keine Anopheles-Larven, dagegen einzelne Anopheles- sowie zahlreichere Culex-Larven stellenweise in den Bewässerungsanlagen für die Orangeplantagen.

Daß die so zahlreich nachgewiesenen Anophelen auch in Jerusalem die Malaria tatsächlich übertragen, unterliegt keinem Zweifel, konnte aber von uns experimentell noch nicht nachgewiesen werden. Ich habe wegen Zeitmangel nur eine geringe Anzahl Anophelen untersuchen können, sie waren aber nicht infiziert. Ferner versuchte ich, aus Larven gezüchtete Anophelen durch einmaliges Blutsaugenlassen an Kranken (von Dr. Masterman und Dr. Hoffmann) zu infizieren. Auch das gelang mir nicht. Die Infektionsversuche mit Tropica schlugen wahrscheinlich deshalb fehl, weil zur Zeit der Experimente die Durchschnittstemperaturen in unserem Laboratorium zu niedrig, zeitweise unter 16° C waren.

Demnächst hoffe ich den exakten Nachweis der Ueberträgerrolle der Jerusalemer Anopheles erbringen zu können.

Die Malariainfektionszahlen stehen, wie kaum anders zu erwarten ist, in einer gewissen Parallelbeziehung zu den durchschnittlichen Monatstemperaturen. Wir wissen, daß eine Entwickelung der Malariaparasiten in der Mücke unter Mindesttemperaturen von 16—20° C, je nach Malariaart, nicht möglich ist. Die Monate Mai bis einschließlich Oktober haben in Jerusalem eine Durchschnittstemperatur über 16° C, die Monate Juni bis September gar über 20° C. Die Malariazeit beginnt im Juni. Die „Hauptsaison" ist im Juli bis Oktober. Offenbar finden aber auch später noch Neuinfektionen statt (s. p. 50). Denn natürlich können Mücken, die sich im Oktober infiziert haben, noch eine Zeitlang infektionstüchtig bleiben.

IV. Untersuchungen von anderen Krankheiten.

1) Rückfallfieber (Typhus recurrens).

Gelegentlich der Blutuntersuchungen auf Malaria wurden auch 5 Recurrens-(Rückfallfieber-)Fälle festgestellt, und zwar 4 in Blutpräparaten, die der arabische Arzt Herr Dr. Kattan für uns in Bethlehem entnommen hatte, und 1 Fall in einem Blutpräparat aus Bet Sahur, übersandt aus der Poliklinik des Oesterreichischen Malteser-Ordens in Tantur bei Bethlehem. Von den 4 ersten Fällen stammten 3 aus derselben Familie, 1 von einem Kind aus dem Nebenhaus. Zunächst wurden in 1 Präparat, Knabe R. N., 12 Jahre alt aus Bethlehem, im dicken Tropfenpräparat einzelne Spirochäten gefunden, bei einer späteren 2. Untersuchung im Anfall dagegen sehr zahlreiche Spirochäten (Taf. I, Fig. 4—6). Auf meine Veranlassung entnahm dann Dr. Kattan auch von den anderen Hausangehörigen Blutproben, von denen auch noch 1 Kind und 1 Erwachsener vereinzelte Spirochäten im dicken Tropfen zeigten.

Leider erhielten wir keine genaueren Angaben über Krankheitssymptome, Fieberverlauf etc. Anscheinend waren die Präparate aber, wenigstens in den beiden letzteren Fällen, im Intervall entnommen. Der Spirochätenbefund im dicken Tropfen wäre dann um so bedeutungsvoller, da bekanntlich für gewöhnlich im Intervall keine Spirochäten gefunden werden. Leider konnte ich infolge plötzlicher Einberufung von Dr. Kattan wegen der Kriegswirren in den mir unbekannten Häusern selbst keine genaueren epidemiologischen Ermittelungen und Nachforschungen nach den Ueberträgern machen, ebenso nicht im Nebenhause.

Offenbar handelte es sich um einen kleinen lokalen, vielleicht eingeschleppten Recurrensherd in den beiden Häusern. Ich habe keinen Grund anzunehmen, daß Recurrens in Bethlehem, woselbst wir im ganzen über 500 Blutuntersuchungen ausgeführt haben, in sehr großer Ausdehnung endemisch vorkommt. Sonst hätten wir bei den Blutuntersuchungen noch den einen oder anderen Fall finden müssen. Immerhin sind noch weitere eingehende Nachforschungen in dieser Richtung (Durchuntersuchung des ganzen Quartiers) notwendig. Als Ueberträger kommen vielleicht Läuse in Frage, deren Zahl in Palästina unendlich ist; auch Wanzen sind sehr verbreitet; Menschenzecken scheinen dagegen, soweit ich erfahren konnte, nicht vorzukommen.

Die im Anschluß an den Recurrensfall bei einem 40-jährigen Manne in Bet Sahur gemachten weiteren Untersuchungen bei den Hausangehörigen daselbst ergaben keinen weiteren Spirochätenbefund.

Alle Fälle verliefen, soweit wir erfuhren, günstig.

Schneider[1]) berichtete, daß er in Syrien im Jahre 1910/11 beim Bagdadbahnbau in Nordsyrien über 100 Recurrensfälle in etwa 12 Monaten gesehen hat. Die Fieber seien bisher nicht in ihrer Ursache erkannt gewesen und für „Typhomalaria“ oder ähnliches gehalten worden. Weiterhin sagt Schneider: „Mancher Fall von Icterus catarrhalis hier ist in Wirklichkeit ein abortiv verlaufenes Recurrens, und eine bessere Diagnostik des Recurrens wird zweifellos auch den beiden Diagnosen: Fièvre bilieuse und Typhomalaria Abbruch tun.“

In Jerusalem selbst hatte ich auch von vornherein Spirochätenbefunde erwartet, zumal die lokalen Verhältnisse für eine Ausbreitung von Recurrens mir außerordentlich günstig zu sein schienen. Hauptsächlich in der Suche nach Recurrens wurden zahlreiche Blutproben von Gefängnisinsassen genau durchforscht in der Ueberlegung, daß, wenn in Jerusalem Recurrens vorkommen sollte, die Krankheit nach den epidemiologischen Erfahrungen in anderen Ländern in erster Linie im Gefängnis bei den gerade in Jerusalem sehr unhygienisch untergebrachten Leuten zu finden sein mußte. Unter den 149 untersuchten Gefangenen war aber kein einziger mit Spirochäten infiziert.

Vielleicht sind die Spirochätenfieber zu einer anderen Jahreszeit häufiger und auch in Jerusalem zu finden. Sehr wahrscheinlich scheint mir dies allerdings nicht.

2) Typhus abdominalis.

Ueber das Auftreten von Typhus abdominalis in Palästina, insbesondere auch in Jerusalem, waren die Meinungen der Kollegen sehr verschieden. Viele stellten das Vorkommen, jedenfalls von typischem Typhus, entschieden in Abrede. Andere, z. B. Dr. Cana'an und Dr. Masterman, dagegen behaupteten bestimmt, klinisch sichere

1) Schneider, Febris recurrens und sein Zusammentreffen mit Malaria in Nordsyrien. (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. 1912. Heft 5.)

Typhusfälle beobachtet zu haben. Ich selbst hatte auch bald Gelegenheit, einige solcher Patienten dieser Kollegen zu sehen, die auch mir bei negativem Malariabefund klinisch sicher Typhus zu sein schienen, wenn es sich auch nicht immer um „Schulfälle" handelte. Bekanntlich verlaufen ja gerade viele der in den Tropen und Subtropen erworbenen Typhuserkrankungen atypisch, zum Teil mit Obstipation und ohne allzu schwere Symptome beim Fieber. Solche Fälle habe ich bei Seeleuten im Hamburger Tropenkrankenhaus und auch unter Angehörigen der Kaiserlichen Marine wiederholt beobachtet. Die Jerusalemer Typhuserkrankungen scheinen meist relativ milde zu verlaufen. Der erste von mir durch Vermittelung von Dr. Cana'an und Dr. Kattan in Bethlehem gesehene klinisch sichere Fall endete allerdings infolge von Darmblutung tödlich; alle anderen waren dagegen im allgemeinen gutartig.

Seitdem mir serologische und bakteriologische Arbeiten ermöglicht waren, konnte ich bald in 8 Fällen einwandfreie positive Widal-Reaktionen für Typhusbacillen bei Serumverdünnung 1 : 100 bis 1 : 400 feststellen; Kontrollen negativ. Vorher hatte ich auch schon bei Herrn Dr. Ségal im französischen Rothschild-Hospital eine positive Widal-Reaktion gesehen.

Nach meiner Ansicht scheinen Typhusinfektionen in Jerusalem viel häufiger zu sein als man bisher anzunehmen geneigt war. Daß auch sonst in Palästina Typhus vorkommt, beweisen Darmpräparate mit typischen Typhusgeschwüren, die mir Herr Dr. Lorch (Jaffa) zeigte. Die Fälle lagen allerdings schon viele Jahre zurück.

Von 5 Jerusalemer Fällen erhielt ich Stuhl und Urin zur Untersuchung, und es gelang gleich im ersten den Eberthschen Bacillus aus dem Stuhl zu isolieren; in einem anderen Falle, der mit Nephritis kompliziert war, wuchsen Typhusbacillen in Menge aus dem Urin in Reinkultur. Auch diese Bacillen zeigten außer Agglutination mit spezifischem Serum bis zur Titergrenze typisches Verhalten auf den verschiedenen bekannten Unterscheidungsnährböden (Drigalski-Agar, Lackmusmolke, Milch, Traubenzuckerbouillon und Neutralrotagar).

Die festgestellten Typhusfälle waren in den verschiedensten Stadtteilen Jerusalems aufgetreten, die meisten außerhalb der Stadtmauer. Erkrankt waren: Araber, Juden und auch eine Deutsche aus der Tempeler-Kolonie Rephaim mit den klinischen Erscheinungen einer hämorrhagischen Pleuritis, septischer Kurve und Venenthrombose. In der Tempeler-Kolonie sollen nach den Mitteilungen von Dr. Hoffmann auch sonst schon häufiger typhusverdächtige Fälle vorgekommen sein.

Wenn auch mitunter mehrere Typhuserkrankungen in demselben Hause (z. B. durch Dr. Masterman) beobachtet wurden, so scheint es nach den Angaben der meisten Kollegen doch, daß größere Typhusepidemieen in Jerusalem bisher nicht vorgekommen sind. Offenbar hängt das mit der jetzigen Art der Wasserversorgung, dem Zisternensystem, zusammen. Beim Fehlen einer gemeinsamen zentralen Wasserversorgung ist natürlich eine explosionsartige Ausbreitung auf dem Wasserwege unmöglich. So haben also die Zisternen auch ihr Gutes. Auch sind Epidemieen durch die Milchversorgung kaum zu befürchten; denn die Kuhmilch ist in Jerusalem ein Luxusartikel, jedenfalls kann sie ebensowenig wie die sehr teure Butter von dem armen Volke erschwungen werden. Die Araber kaufen höchstens Ziegenmilch, die allerdings eventuell auch einen Krankheitskeim

verbreiten kann, den Micrococcus melitensis, den Erreger des Maltafiebers.

3) Kontinuierliche und Maltafieber.

Da es in Jerusalem sehr viele Ziegen gibt — die vielfach auf der Straße gemolken werden —, so mußte man an die Möglichkeit des Vorkommens von Maltafieber denken, das ja in fast allen Mittelmeerstaaten, mit denen Palästina in dauernder Verbindung steht, endemisch ist. In vielen der Mittelmeerländer waren früher vielfach sogenannte „continued fevers" beschrieben worden, von denen es später klar wurde, daß sicher ein Teil dem Maltafieber angehörte. In Jerusalem berichtete man uns über eine bisher in ihrer Ursache noch nicht sicher ergründete Krankheit, welche mit 3-wöchigem Fieber einhergeht, und die von den Aerzten „kontinuierliches Fieber" genannt wird. Nach meiner Ueberzeugung sind vielleicht manche dieser kontinuierlichen Fieber auf Typhus- oder Paratyphusinfektionen mit mildem Verlauf zurückzuführen. Bei anderen aber handelt es sich möglicherweise um Maltafieber. Leider hatte ich noch keine Gelegenheit zu eingehenden Untersuchungen in diesem Sinne. Herr Dr. Ségal jedoch erzählte mir, daß er im letzten Jahre Maltakokken vom Kranken isoliert habe.

Jedenfalls dürfte es sich lohnen, die kontinuierlichen Fieber noch eingehender, namentlich mittels Blutkulturen zu untersuchen. Dabei wird sich wahrscheinlich herausstellen, daß es sich bei dem so genannten Fieber nicht um eine einheitliche besondere Krankheit handelt, sondern vielleicht um mehrere verschiedene, die sich ätiologisch trennen lassen

4) Dengue- und Pappatacifieber (?).

Ende September 1912 trat zum ersten Male nach langer Zeit in Jerusalem eine weit ausgebreitete Dengueepidemie auf, die im Laufe von etwa 6 Wochen fast alle Schichten der Bevölkerung ergriff. Die Einschleppung der Krankheit, die im allgemeinen nur die an der Küste gelegenen Plätze zu befallen pflegt, in die 65 km (Fahrstraße, Luftlinie weniger) landeinwärts, 780 m über dem Meeresspiegel gelegene Stadt Jerusalem ist wahrscheinlich von Jaffa aus erfolgt. Daselbst war ebenso wie in Beirut und Haifa schon vorher Dengue in heftiger Weise aufgetreten. Später dehnte sich die Epidemie noch weiter landeinwärts bis nach Hebron hin aus. Hebron liegt 927 m hoch. Die Dengueepidemie ist von Dr. Cana'an im Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene. 1913. Heft 1 bereits eingehend beschrieben worden. Ich kann daher hier die Klinik übergehen. Es handelte sich in der Mehrzahl um typische Fälle mit den bekannten klinischen Symptomen. — Uns interessierte die mikrobiologische Seite. Leider konnten wir zur Zeit der Epidemie noch keine bakteriologischen Versuche, Filtrationsversuche u. dgl. vornehmen. Es blieb uns nur übrig, durch Blutuntersuchungen die Angaben von Graham[1]) sowie Ardati[2]) (Beirut) über Parasitenbefunde bei Dengue nachzuprüfen. Leider standen uns keine Originalpräparate der Beiruter Kollegen zur Verfügung, um uns daran genau orientieren zu können. In keinem der von uns untersuchten, nach Giemsa gefärbten Präparate waren neue parasitäre Gebilde zu entdecken (in 2 Fällen Malariaparasiten als Nebenbefund). Dagegen konnte als typischer Blut-

1) Graham, H., Dengue. (Med. Record. 1902. 8. Febr.)
2) Ardati, N., Observation on Dengue. (Med. Record. 1910. 3. Sept.)

befund stets eine ausgesprochene Leukopenie festgestellt werden, ein Befund, der bekanntlich für Dengue charakteristisch ist. Bei den Untersuchungen im dicken Tropfen wurde aus diesem typischen Befunde sehr häufig die Diagnose Dengue vermutet.

Die Ueberträger bei der Epidemie in Jerusalem haben wir nicht experimentell nachgewiesen. Die am häufigsten vorkommende Culex-Mücke ist Culex pipiens. Andere Culex-Arten sind seltener und kommen wohl kaum als Uebermittler in Frage.

Dagegen konnte festgestellt werden, daß während der trockenen heißen Monate in manchen Teilen von Jerusalem die Pappatacimücke [Phlebotomus papatasii, bestätigt von Eysell (Cassel) und Doerr (Wien)] sehr zahlreich vorkommt und stellenweise eine lästige Plage bildet, selbst in manchen neueren Europäerhäusern, z. B. im Syrischen Waisenhaus und im Deutschen katholischen St. Paulus-Hospiz. Der Direktor des letzteren, der durch seine schönen zoologischen Sammlungen auf Madaira und in Palästina bekannte Pater Superior E. Schmitz, hatte mich zuerst auf diese sogenannten „Sandfliegen" aufmerksam gemacht und um eine Bestimmung der Insekten gebeten. Die Pappatacimücken, die durch die gewöhnlichen Moskitonetze hindurchgehen, sind für manche Leute furchtbare Quälgeister. Ich sah einen Touristen, der im Syrischen Waisenhaus gewohnt hatte und ganz fürchterlich von Stichen heimgesucht worden war: An den Armen war ein Stich neben dem anderen. Der Betreffende hatte 3 Tage lang an „Fieber" krank gelegen; ob es „Pappatacifieber" war, konnte nachträglich nicht sicher festgestellt werden. Im übrigen aber habe ich Fieberfälle gesehen, auf die genau die klassische Beschreibung von Doerr[1]) und seinen Mitarbeitern paßte. Auch andere Kollegen, z. B. Herr Dr. Cana'an und Herr Dr. Levontin in Hebron, sahen solche Fälle.

5) Kala-Azar und Orientbeule.

Aus klinischen Beobachtungen darf man vermuten, daß die in vielen Mittelmeerstaaten nachgewiesene Splenomegalia infantum auch in Palästina, speziell in Jerusalem, vorkommt. Nicht nur sahen wir manchmal bei Erwachsenen enorme Milzvergrößerungen (ohne Malariaparasiten), sondern insbesondere wurde auch eine ganze Anzahl von sehr anämischen, stark abgemagerten Kindern beobachtet, deren Milz nach unten fast bis zum Becken reichte und nach innen die Nabellinie überragte. Leider hatten wir noch nicht die Gelegenheit, richtigen Milzpunktionssaft auf das Vorhandensein der Erreger der sogenannten Kinder-Kala-Azar, der Leishmania infantum, zu untersuchen. Herr Dr. Grussendorf und Dr. Masterman sandten uns je einmal Milzpunktat. Die Präparate enthielten aber lediglich Blut, keine Milzzellen. So sind unsere negativen Befunde nicht in negativem Sinne beweisend.

Die sogenannte Orientbeule (Erreger Leishmania tropica) soll in Palästina vorkommen, namentlich im Jordantal und am Toten Meer, wo man sie „Jerichobeule" nennt. Leider habe ich noch keinen Fall zur Untersuchung bekommen.

6) Lepra.

Aus der Geschichte ist schon lange das Vorkommen des Aussatzes in Palästina bekannt. Jedem Pilger, der Jerusalem besucht hat,

1) Doerr, Franz u. Taussig, Das Pappatacifieber. Leipzig und Wien (F. Deuticke) 1909.

sind sicher die zum Teil furchtbar entstellten aussätzigen Bettler in den Straßen, namentlich in der Nähe der heiligen Stätten aufgefallen. Diese armen Gestalten legen zugleich Zeugnis dafür ab, daß die Leprabekämpfung in Jerusalem noch vieles zu wünschen übrig läßt. Leprakranke gehören nicht auf die Straße, sondern in Asyle. Zwar gibt es 2 Lepraasyle in Jerusalem: Das eine, von der Herrenhuter Brüdergemeinde unterhaltene, in der Nähe der Tempeler-Kolonie Rephaim gelegene Aussätzigenhospital „Jesus hilf", unter Leitung von Herrn Sanitäts-Rat Dr. Einsler stehend, ist mustergültig. Von dem Aussätzigenheim in Siloah kann man nicht dasselbe behaupten. Zwar beherbergen die genannten Leprahäuser eine Anzahl von Kranken (im Deutschen Lepraheim waren zur Zeit unseres Besuches 54 Kranke), aber die Internierung ist keine sichere, d. h. dauernde, insbesondere nicht in Siloah. Im Deutschen Heim sind die Kranken infolge der guten Unterbringung und Pflege seßhafter. Ich sah daselbst alle Formen der Lepra, namentlich aber die Knotenform. Fig. 5 zeigt einige Lepröse des Deutschen Lepraheims beim Spiel.

Fig. 5. Leprakranke im Deutschen Lepraheim. Phot. von Dr. Einsler ded.

Bisher gibt es keine strengen Zwangsmaßregeln gegen die Lepra: Die Kranken können, wenn sie wollen, in die Lepraheime gehen, sie sitzen aber auch zeitweise auf der Straße und betteln, eine Beschäftigung, die manchem entschieden behagt und die auch mehr einbringt. Manche gehen in der weniger guten „Geschäftszeit" ins Heim nach Siloah, zur Zeit der Pilgerbesuche aber ziehen sie den Bettlerberuf vor. Solange diesem Zustande nicht mit dauernder zwangsweiser Internierung der Leprakranken entgegengetreten wird, kann von einer erfolgreichen Bekämpfung der Seuche, die immer noch in Jerusalem und Palästina eine Anzahl Opfer fordert, nicht die Rede sein.

Auffallenderweise fanden wir bei den Blutuntersuchungen im Lepraheim keinen einzigen Malariaträger. Allerdings liegt das Lepraheim ganz außerhalb der Stadt in gesunder Lage.

7) Tuberkulose.

Zu den Volks-Krankheiten im wahren Sinne des Wortes gehört, wenigstens in Jerusalem, anscheinend auch die Tuberkulose. Nach den Mitteilungen einiger Aerzte soll sie namentlich in gewissen Bevölkerungsschichten, besonders jüdischen, rapide um sich greifen. So erzählte uns Herr Dr. Severin, daß ganze Familien an Tuberkulose zugrunde gehen; auch Herr Dr. Wallach, Dr. Einsler u. a. haben viel Tuberkulose beobachtet, namentlich unter den Yemeniten; insbesondere sollen auch unter den meist jüdischen Droschkenkutschern viele tuberkulös sein. Als Gelegenheitsursache für deren Infektion kommt eventuell die enorme Staubplage im Sommer neben den anderen ungünstigen hygienischen Lebensbedingungen in Frage. — Neben der Lungentuberkulose sind auch die chirurgischen Formen keine Seltenheit. Nicht wenig Fälle mit Bauchfell- und Knochentuberkulose kommen in Behandlung. — Eine moderne Tuberkulose-Heilstättenbehandlung ist bisher in Jerusalem nicht möglich aus dem einfachen Grunde, weil noch keine Heilstätte in Jerusalem und überhaupt in Palästina existiert, trotzdem manche Plätze geradezu für eine solche wie geschaffen sind. Ein Tuberkuloseheim bzw. eine Tuberkulose-Heilstätte ist ein dringendes Bedürfnis für Palästina. Der Tuberkulosebekämpfung muß baldigst große Aufmerksamkeit zugewendet werden, damit diese schlimmste Plage der Menschheit nicht noch weiter um sich greift.

8) Trachom, Körnerkrankheit der Augen.

Auch die geradezu ungeheure Trachomausbreitung fordert unbedingt die energischsten Bekämpfungsmaßnahmen. Nicht nur so gut wie alle Eingeborenen, sondern auch die meisten Europäer werden von dieser lästigen und gefährlichen Augenkrankheit befallen. Infolge der unglaublichsten Vernachlässigung des Leidens bei den Eingeborenen endigen viele Erkrankungen mit entsetzlichen Entstellungen des Sehorgans und mit Erblindungen. Das Los dieser armen Menschen wird in dankenswertester Weise in verschiedenen mustergültig organisierten Blindenheimen erleichtert, so z. B. in der Blindenanstalt im „Deutschen Syrischen Waisenhaus“ und in der großartig geleiteten „Armen-, Krüppel- und Waisenfürsorgeanstalt“ der französischen St. Vinzenz-Schwestern. Zwar geschieht auch vieles von europäischen Aerzten in Augenkliniken zur Behandlung der Kranken. Aber wer einmal den Massenbetrieb in der englischen und jüdischen Augenpoliklinik beobachtet hat, wer gesehen hat, wie viele hunderte von armen Kranken aus Jerusalem und Umgegend von den frühsten Morgenstunden an die durch schwere Drahtgitter geschützten Eingänge zu der englischen Augenklinik belagern, wie die wenigen Augenärzte in ihrem arbeitsreichen Berufe von frühmorgens an sich geradezu aufopfern, der kann sich des Eindruckes nicht erwehren, daß sich auch für die Behandlung und Bekämpfung der Augenkrankheiten in Palästina noch ein weites Feld dankenswerter Tätigkeit bietet. Vor allen Dingen müßte die Trachombekämpfung nach europäischem Muster organisiert werden. Dazu genügt die Behandlung so und so vieler Patienten nicht, zumal die Behandlungsdauer und auch damit der Enderfolg vom Willen des Patienten abhängt.

9) Dysenterie.

Die Darmruhr ist in ganz Palästina endemisch, den Reisenden können Schutzmaßregeln gegen diese hartnäckige und gefährliche Infektionskrankheit nicht dringend genug empfohlen werden. Die Erkrankungen sind in Jerusalem besonders unter der ärmeren arabischen und jüdischen Bevölkerung zu gewissen Jahreszeiten häufig. Bei der Gleichgültigkeit gegen eine zweckmäßige hygienische Fäkalienbeseitigung (p. 70) sind der Weiterverbreitung natürlich Türen und Tore geöffnet, zumal da die als Keimverschlepper in Betracht kommenden Fliegen in Jerusalem zeitweise ungeheuer zahlreich sind. Zu den Dysenteriebekämpfungsmaßnahmen gehört daher neben der Regelung des Abfuhrwesens auch die Vernichtung der Fliegen, die ja auch als Typhusverschlepper in Frage kommen können.

Leider waren uns systematische Untersuchungen zur Feststellung der Dysenterieart noch nicht möglich. In einem Falle, in dem der Stuhl das Aussehen von Amöbendysenterie hatte, sahen wir zwar Amöben. Da sie aber bereits abgestorben waren, so konnten wir die Art nicht sicher feststellen. Für das Vorkommen von Amöbendysenterie sprechen u. a. auch die beobachteten Leberabszesse.

10) Darmparasiten, Bilharziose.

Darmparasiten sind wie in allen tropischen und subtropischen Ländern, so auch in Jerusalem offenbar sehr verbreitet, wie schon die von uns so häufig festgestellte ganz bedeutende Vermehrung der eosinophilen weißen Blutkörperchen vermuten ließ (s. p. 45). Gesehen haben wir: Eier von Ascaris lumbricoides und Trichocephalus dispar.

Wie schwer manche Infektionen sein müssen, zeigte ein Vorfall in der arabischen Poliklinik von Dr. Cana'an. Von einer Fieberverdächtigen hatte ich in schwerem Fieberanfall Blut entnommen. Sie ging hinaus und erbrach einen Spulwurm.

In einem Fall aus Bethjala, der klinisch das typische Bild der Ankylostomiasis bot, ließen sich zahlreiche Eier im Stuhl nachweisen. Der Fall stammte aber offenbar aus Amerika, immerhin ein Beweis, daß eine Einschleppung der Parasiten denkbar ist.

In großer Ausbreitung scheint (nach den Aussagen verschiedener Aerzte) Ankylostomiasis nicht endemisch vorzukommen. Systematische Untersuchungen in dieser Richtung sind aber noch notwendig, zumal mehrere Krankheitsbilder doch klinisch verdächtig erschienen.

Bilharzia-Eier haben wir im Stuhl oder Urin noch nicht gefundeu. Die Blasen-Bilharzia soll u. a. nach Beobachtungen im Deutschen und Englischen Hospital nicht selten sein. Vielleicht stehen die relativ zahlreich zur Operation gelangenden Blasensteine zum Teil im Zusammenhang mit Bilharzia-Infektionen. Herr Dr. Lorch zeigte mir in Jaffa eine sehr schöne Kollektion aller Arten von Blasensteinen, die er bei Kranken in Jaffa operativ entfernt hatte.

11) Venerische Krankheiten.

Gonorrhöe ist anscheinend in den letzten Jahren in Zunahme begriffen. Dasselbe gilt von der Syphilis, die in den verschiedensten Formen beobachtet wird und deren Nachkrankheiten (Tabes) auch nicht fehlen. Die Salvarsantherapie war schon in Anwendung. Wir konnten für einige unbemittelte Patienten von dem uns von Exzellenz Ehrlich in entgegenkommendster Weise mitgegebenen Neosalvarsan zur Verfügung stellen. Die Behandlungsresultate waren prompte, die intramuskuläre Injektion verursachte allerdings große Schmerzen.

12) Stomatitis ulcerosa, Noma, Ulcus tropicum.

Bekanntlich ist für diese drei Affektionen der gleiche mikrobiologische Befund, die charakteristische Symbiose von Spirochäten und fusiformen Bacillen typisch. Diesen Befund konnte ich auch in Jerusalem bei den beiden zunächst genannten Affektionen erheben

(s. Taf. I, Fig. 1—3); namentlich waren die Spirochäten in ungeheurer Anzahl vorhanden. Ich sah einen Nomafall im Hospital von Dr. Masterman mit foudroyantem Verlauf bei einem etwa 1-jährigen, bis zum Skelett abgemagerten Kinde. Intramuskuläre Anwendung von Neosalvarsan vermochte zwar den Verlauf vorübergehend aufzuhalten. Der bösartige Fall endete aber doch schließlich unter entsetzlicher Zerstörung des ganzen Gesichts tödlich. Vielleicht hätte man von Salvarsananwendung, wenn der Fall früher in Behandlung gekommen wäre, eher Erfolg erwarten können.

In einem zweiten Falle, der ähnlich wie der vorhergehende bei einem kleinen abgemagerten Kinde an der Oberlippe mit Ulzeration der Mundschleimhaut begann, erfolgte nach frühzeitiger Neosalvarsananwendung eine prompte Besserung mit fast restlosem Verschwinden der Spirochäten und fusiformen Bacillen in wenigen Tagen. Jedoch trat später ein Rezidiv, wieder mit Spirochäten und fusiformen Bacillen ein. Vielleicht waren die Salvarsandosen zu gering.

13) Tollwut, Lyssa, soll in Jerusalem und Umgegend und weiterhin in Palästina und Syrien nicht selten sein. So sind angeblich im Jahre 1911 über 30 Patienten zur Behandlung nach Kairo geschickt worden. Die Schutzimpfung kommt aber infolge des unvermeidlichen Zeitverlustes in den meisten Fällen zu spät. Daher ist die Gründung einer Wutschutzabteilung in Jerusalem (für Palästina und Syrien) schon im Oktober 1912 von mir als dringend notwendig gefordert worden[1]).

14) Andere infektiöse Krankheiten.

Pest und Cholera haben meines Wissens Jerusalem seit langer Zeit verschont. Selbst die Choleraepidemien dieses und des letzten Jahres, die in anderen Teilen Palästinas, so im Vorjahre in Jaffa, Opfer forderten, haben nach Jerusalem keinen Ausläufer entsandt.

Pocken kamen vor, in letzter Zeit aber anscheinend in Jerusalem nicht in beängstigender epidemischer Ausbreitung.

15) Tumoren.

Carcinom und andere bösartige und auch gutartige Tumoren kommen vor. Genaues statistisches Material über die Ausbreitung existiert bisher aber noch nicht. Eine Enquête in dieser Richtung wäre namentlich mit Rücksicht auf die viel erörterte Frage der Verbreitung von bösartigen Tumoren (besonders Carcinom) in den Tropen und Subtropen jedenfalls wissenschaftlich interessant. Dabei wären die von Loehlein[2]) kürzlich für solche Sammelforschungen hervorgehobenen Punkte zu berücksichtigen; insbesondere Angaben über Stammeszugehörigkeit, Alter und Geschlecht der Carcinomträger, Sitz des Carcinoms, Dauer der Krankheit, Vorhandensein oder Fehlen von Metastasen, histologischer Bau.

V. Die Krankenfürsorge in Jerusalem.

Für die Behandlung der unzähligen Kranken geschieht in Jerusalem sehr viel. Die daselbst interessierten Nationen und Konfessionen wetteifern in dem Bestreben, in schönen Hospitälern und Polikliniken den vielen Leidenden zu helfen. Nicht weniger als 15 — wenn auch nicht alle ganz moderne — Hospitäler und noch mehr Polikliniken

1) Mitte März wurde bereits von meinem Vertreter Dr. Huntemüller in Jerusalem eine Tollwut-Schutzstation eröffnet, die Ende März schon 4 Patienten in Behandlung hatte.

2) Loehlein, M., Vorkommen von Krebsgeschwülsten in tropischen Ländern. (Arch. f. Schiffs- und Trop.-Hyg. 1913. H. 4.)

existieren in der Stadt; zwei weitere große Hospitäler, ein italienisches und ein israelitisches, sind im Bau.

Die vorhandenen Hospitäler sind: Türkisches Municipal Hospital (Leiter: Dr. Photios), Deutsches Kaiserswerther Hospital (Leiter: Dr. Grussendorf), Englisches Missionshospital (Leiter: Dr. Masterman), Englisches Missionshospital (Leiter: Dr. Twaites), Französisches Hospital St. Louis (Leiter: Dr. Drouillard), Französisches Rothschild-Hospital (Leiter: Dr. Ségal), Deutsch-jüdisches Hospital Schare Zedek (Leiter: Dr. Wallach), Russisches Hospital (Leiter: Dr. Severin), Griechisches Hospital (Leiter: Dr. Spyridon), Englische Augenklinik (Dr. Thomson), Israelitisch-deutsche Augenklinik, Israelitisches Hospital (Leiter: Dr. Einsler und Dr. Masie), Israelitisches Hospital (Leiter: Dr. Mazarake und Dr. Abuschdid), Deutsches Lepraheim „Jesus hilf" (Leiter: San.-Rat Dr. Einsler), Türkisches Lepraheim in Siloah.

Das Deutsche Hospital in **Jaffa** entspricht nicht allen Anforderungen; es ist in einem gemieteten Hause eingerichtet. Um so erfreulicher sind die Anstrengungen der Deutschen in Jaffa, ein neues Hospital zu bauen. Die Mittel für den Bauplatz sind bereits gesammelt, weitere Unterstützungen aus der Heimat aber dringend notwendig.

Zu den meisten der genannten Hospitäler gehören auch Polikliniken, in denen der Krankendienst in der Regel 3mal wöchentlich vormittags versehen wird. Außerdem gibt es noch andere Polikliniken: eine arabische (Dr. Cana'an), eine armenische (Dr. Pascal), eine englische (Dr. Corbelt) und eine italienische (Dr. Mancini).

In den Hospitälern selbst herrscht Ordnung. Die von Berufsschwestern aller Konfessionen versehene Krankenpflege funktioniert gut. Insbesondere ist auch das Deutsche Kaiserswerther Hospital in ganz Palästina durch seine operative Tätigkeit bekannt.

Unendlich groß ist die Schar der Leidenden, die täglich die Behandlungsstätten aufsuchen. Mit größter Aufopferung geben sich die Jerusalemer Aerzte dem überaus schwierigen, wenig einbringenden humanen Werke der Behandlung hin. Aber bei der großen Zahl der sich herandrängenden Kranken ist es unmöglich, daß jeder einzelne in der Poliklinik genau untersucht wird. So müssen häufig Rezepte ohne gründliche Untersuchung lediglich auf die Angaben der Kranken hin ausgestellt werden. Damit ist dann aber noch lange nicht gesagt, daß die Kranken nun auch die Anordnungen befolgen. Im Gegenteil, am nächsten Tage laufen sie voraussichtlich zu einem anderen Arzt in eine andere Poliklinik, am folgenden wieder zu einem anderen usw. Es gibt ja so viele Behandlungsstellen, in denen die Konsultation nichts kostet und die Medizin umsonst oder gegen ein geringes Entgelt verabfolgt wird! Aber auch selbst die einheimischen Privatpatienten sind meist keine treuen Kunden; auch sie lieben den Aerztewechsel. Nicht selten trifft der behandelnde Arzt bei seiner zweiten oder einer der folgenden Konsultationen einen Kollegen am Krankenbette. Daß dadurch die Freude am Beruf nicht gerade erhöht wird, ist selbstverständlich. Eine regelrechte Dauerbehandlung stößt also bei den Eingeborenen meist auf große Schwierigkeiten. Und so wurde auch z. B. eine regelrechte 3-monatige Malariabehandlung bisher kaum oder nie durchgeführt oder nicht für nötig gehalten. Wenn auch durch den bisherigen poliklinischen Betrieb mancherlei Gutes geschaffen werden kann, so erblicke ich darin mit den meisten Jerusalemer Aerzten noch lange nicht das Ideal der Krankenbehandlungsstellen. Eine Erziehung der Kranken zu „festen Kunden" und zur gehorsamen Befolgung der Anordnungen dürfte bei der Natur der einheimischen Bevölkerung noch viele, fast unüberwindliche Schwierigkeiten bieten.

VI. Andere Wohlfahrtseinrichtungen in Jerusalem.

Außer in Krankenhäusern wird auch noch in anderen Wohltätigkeitsanstalten nach den verschiedensten Richtungen hin für Kranke, Krüppel, Greise, Schwachsinnige und Blinde (s. p. 65) in uneigennützigster Weise gesorgt, so insbesondere

in dem hervorragend organisierten französischen Riesenbau, genannt „Arche Noah", geleitet von den katholischen Sœurs de St. Vincent de Paul. In dieser Anstalt sahen wir fast alle Klassen der armen und leidenden Menschheit. Für einen Jeden wurde von den unermüdlichen Schwestern, denen ihre Klientel gruppenweise zugeteilt war, gesorgt. In den zugehörigen Schulen wurden die Kinder vorzüglich unterrichtet.

Aehnlich so wie in der Krankenpflege wetteifern die verschiedensten Nationen und Konfessionen auf dem Gebiete des Schulwesens. Eine kaum übersehbare Zahl von Schulen existiert in Jerusalem, in denen Tausende von Eingeborenen-Kindern täglich unterrichtet werden (vgl. p. 47). Außer Schreiben, Lesen, Rechnen lernen sie Geschichte, Geographie, Naturkunde usw.; ferner Sprachen, als Hauptsprache natürlich die derjenigen Nation, welcher der Schulbesitzer angehört. Ein Schulzwang existiert nicht. Täglich fehlen viele Kinder, die meisten offenbar wegen Krankheit (s. p. 47). Im allgemeinen hatte ich in den vielen besuchten Schulen den Eindruck, daß die Kinder gern kamen und zum großen Teil, wenn gesund, nicht unintelligent waren. Insbesondere entwickeln schon viele kleine Kinder ein außerordentliches Gedächtnis und Sprachentalent. Staunenswert waren unter anderem die Leistungen in der von Miss Landau mustergültig organisierten englischen Evelina de Rothschild-Schule, die etwa 500—600 jüdische Schülerinnen zählt, von denen aber in der Malariazeit fast täglich über 100 fehlten. Auch das Deutsche Mädchenwaisenhaus für Eingeborene, „Talitha Kumi", mit Tagesschule (Leitung: Schwester Dorchen und Katharina vom Kaiserswerther Verband) und das deutsche „Syrische Waisenhaus" (Leiter: Direktor Schneller) mit den verschiedensten Industrieanlagen sind Musteranstalten, aus denen schon sehr viele brauchbare Menschen hervorgegangen sind. Zu Talitha Kumi gehören an 150 Kinder, und im Syrischen Waisenhaus sind im ganzen über 400 Kinder und Erwachsene untergebracht und beschäftigt.

VII. Die allgemein-hygienischen Verhältnisse.

Die allgemein-hygienischen Zustände in Jerusalem sind keineswegs mustergültig. Die Segnungen der Hygiene haben in Palästina bisher noch wenig Eingang gefunden. Es ist hier nicht der Ort, die in fast allen Stadtquartieren vorhandenen Uebelstände im einzelnen zu kritisieren, zumal da die Stadtverwaltung sich unter dem rührigen Bürgermeister Husseini Effendi in den letzten Jahren Mühe gegeben hat, in manchen Dingen eine Besserung herbeizuführen. Aber leider sind dabei die verschiedensten, nicht geringen Schwierigkeiten zu überwinden, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann.

Schon lange beschäftigten sich der Bürgermeister und auch andere Interessenten mit der Frage einer Kanalisation und zentralen **Wasserversorgung**. Projekte sind schon wiederholt ausgearbeitet worden. Ja, eine reiche Engländerin soll schon einmal die enormen Mittel für die Wiederherstellung der Salomonischen Wasserleitung als Geschenk angeboten haben. Bisher ist die Wasserleitungsfrage noch nicht über das Vorstadium hinausgekommen. Mustergültige und einwandsfreie Wasserversorgung und Kanalisation bilden das Endziel der Assanierung Jerusalems. Ich sagte „einwandsfreie" Wasserleitung, d. h. eine Anlage, die nicht nur vor allen Verunreinigungen und Mißbrauch absolut sicher ist, ja noch sicherer sein muß als in unseren europäischen Großstädten, sondern die auch unter dauernder Sachverständigen-Kontrolle stehen müßte. Würde das nicht der Fall sein, dann würde zwar die Malariagefahr mit der Zisternenbeseitigung bedeutend reduziert werden, dafür könnte aber eine andere viel schlimmere Seuchengefahr entstehen, die der möglichen Verseuchung des Wassers mit Typhus- oder Choleraerregern. Und dann dürften vielleicht Krankheiten, die bisher keine große Rolle spielten, bedenklich in den Vordergrund rücken und manche Opfer fordern.

Auch die **Kanalisationsanlage** müßte — ohne Rücksicht auf Kosten — allen modernen Anforderungen entsprechen. Bis

eine solche aber erreicht sein wird, könnte mit verschiedenen Hilfsmitteln wenigstens vorläufig eine Besserung der hygienischen Zustände erzielt werden. Zunächst sind in erster Linie zu fordern: zweckmäßige **Abortanlagen** und Regelung des Abfuhrsystems. Die offenen, sehr häufig in den Juden- und Araberhäusern gleich neben dem Hauseingang gelegenen „Aborte" — wenn man die Bezeichnung hierfür überhaupt anwenden kann — müssen unbedingt verschwinden. Ferner müßte strengstens verboten werden, daß Hausabfälle, Tierkadaver, menschliche Entleerungen auf die Straße deponiert werden und daß vor den Häusern auf der Straße geschlachtet wird. Oeffentliche Klosettanlagen mit Bewachung sind ein geradezu dringendes Bedürfnis. Das **Abfuhrsystem** bedarf einer gründlichen Regelung. Die wenigen vorhandenen Abfuhrkarren für die äußere Stadt und die ihrer Pflicht wenig bewußten „Straßenreiniger", die den Unrat aus der inneren Stadt in Kästen, Säcken etc. auf Eseln wegschaffen sollen, genügen lange nicht zur Beseitigung der Berge von Schmutz u. dgl.

Das sind alles hygienische Forderungen, die zwar schnell gestellt, deren Erfüllung aber dem Kenner der Jerusalemer Verhältnisse fast unmöglich scheint. Und doch muß es gelingen! Was nützen alle die vielen Millionen, die jahraus jahrein aus allen Teilen der Welt in die heilige Stadt wandern, was alle die schönen Stiftungen, Schulen und Krankenhäuser, wenn nicht dafür gesorgt wird, daß das Uebel der grenzenlosen Unhygiene bei der Wurzel erfaßt und ausgerottet wird. Das höchste irdische Gut, die Gesundheit, erhält die Volkskraft. Dauernd einheimische Krankheiten bewirken mit absoluter Sicherheit: zunehmende Degeneration, geistigen und sittlichen Verfall, wie die Geschichte zur Genüge beweist.

VIII. Malaria-Bekämpfungsmaßnahmen.

Die Hauptfrage, die unsere Expedition nach der Malariabestandsaufnahme zu beantworten hatte, war: Was kann zur Assanierung Jerusalems geschehen? Wie läßt sich insbesondere die Hauptkrankheit, die Malaria, bekämpfen?

Einige der dringend notwendigen allgemein-hygienischen Maßnahmen sind bereits im vorigen Abschnitt kurz angedeutet worden. Eine Assanierung der Stadt von Grund auf nach modernen Grundsätzen würde auch ein gutes Mittel im Kampfe gegen die Malaria sein, insbesondere, wenn Wasserleitung und Kanalisation angelegt würden. Die Frage aber, ob es nach deren Fertigstellung möglich sein wird, nun plötzlich alle Zisternen zu schließen, ist ein Rätsel, dessen Lösung im Schoße der Zukunft liegt. Ohne ernsten Widerstand der Eingeborenen, die an ihre Zisternen seit jeher gewöhnt sind, dürfte der Wechsel schwerlich von statten gehen, zumal man wohl kaum das Leitungswasser gratis abgeben wird; im Gegenteil: die bisher genannten voraussichtlichen Preise für Leitungswasser sind recht hohe. Das Regenwasser in den eigenen Zisternen kostete bisher nichts. Allerdings müssen viele Leute am Schlusse der Trockenzeit, wenn das Zisternenwasser zur Neige gegangen ist, sich Wasser von Wasserträgern kaufen. Die Wasserträger holen das Wasser an den wenigen öffentlichen Brunnen bzw. aus den großen Zisternen auf dem Tempelplatz und transportieren es in nicht gerade einwandsfreier Weise in Ziegenfell-Wassersäcken (Taf. IV, Fig. 14).

Weiterhin ist es auch nicht ausgeschlossen, daß im Anschluß an eine zentrale Wasserversorgung mit reichlichem Wasser, neue bisher

nicht gekannte Brutplätze entstehen. — So darf man sich nicht der zuversichtlichen Hoffnung hingeben, daß nach Herstellung einer Wasserleitung die Malariafrage mit einem Schlage gelöst ist, daß nun die malariaübertragenden Anopheles-Mücken (und damit auch die Malaria) sicher verschwinden werden. Vielmehr müssen auch andere Bekämpfungsmaßnahmen ergriffen werden, zumal die Wasserleitung und Kanalisation noch in weiter Ferne zu liegen scheinen.

Was ist bisher zur Malariabekämpfung in Jerusalem geschehen, und was kann weiter geschehen? Und zwar 1) gegen die Malariaparasiten im Menschen, 2) gegen die übertragenden Anophelen.

ad 1. Bekämpfung der Malariaparasiten im Menschen.

Die Grundbedingung für eine erfolgreiche Parasitenbekämpfung sind eingehende systematische **Ermittelungen.**

Bis zur Ankunft der amerikanisch-jüdischen und unserer Expedition im August 1912 waren noch nicht häufig Malariaparasiten durch Blutuntersuchungen in Jerusalem nachgewiesen und studiert worden. Nur Herr Dr. Einsler zeigte mir einige gutgefärbte Präparate. Der einzige Arzt aber, der vor uns systematische Untersuchungen gemacht hatte, war der Engländer Cropper[1]), der von September 1904 bis Januar 1905 den englischen Arzt Dr. Masterman in Jerusalem vertrat

Von 937 poliklinischen Patienten in diesen $3^1/_2$ Monaten wurden 424 als Malaria diagnostiziert, davon 228 mit Milzvergrößerung und 80 mit Malariaparasiten. In derselben Zeit sind in dem Orte Ramallah 179 positive Fälle festgestellt worden, im ganzen also 259 Fälle mit Parasiten. Von diesen sollen 68 Proz. Tropica-, 20 Proz. Tertiana- und 4 Proz. Quartanaparasiten gewesen sein; in 8 Proz. der Fälle war die Malariaart fraglich. [Unsere Prozentzahlen (s. p. 51) lauten wesentlich anders: 47,7 Proz. Tropica-, 28,6 Proz. Tertiana-, 20,1 Proz. Quartana- und 3,5 Proz. mehrfache Infektionen. Allerdings waren ja die meisten Fälle Croppers aus Ramallah.] Immerhin scheinen die Cropperschen Beobachtungen, die sich hauptsächlich auf Lebenduntersuchungen stützen, zum mindesten nicht ganz einwandsfrei. — Auch die Mitteilungen von Cropper im Jahre 1905 über "a form of malarial parasite found in and around Jerusalem" lassen manche Einwände zu. Wir haben in Jerusalem und Umgegend nur die 3 bekannten Malariaarten gesehen.

Eine Bekämpfung der Malaria in Jerusalem selbst durch systematische Massenbehandlung unter Blutkontrolle hatte bis vor unserer Ankunft noch nicht stattgefunden. Zwar nahmen die Europäer viel Chinin (s. auch p. 53), aber nicht systematisch.

Dagegen hatte in der jüdischen Kolonie Atlith bei Haifa der Arzt Hillel Yofé[2]) einen Versuch der Chininprophylaxe gemacht, indem er allen Bewohnern täglich Chinin gab. Die Folge war, daß im Jahre 1911 die Zahl der Malariafälle in manchen Monaten um mehr als das 10fache zurückging.

Ferner hatte Herr Dr. Brünn schon in den letzten Jahren in der jüdischen Kolonie Hédéra bei Haifa die Malaria auch mit Chinin und Sanierungsmaßnahmen bekämpft. Ueber die Einzelheiten wird er selbst berichten. Herr Brünn, mit dem ich im Juni 1912 in Hamburg über unsere geplante Malariaexpedition nach Jerusalem gesprochen hatte, reiste im Juli wieder von Deutschland aus, um im Auftrage des ameri-

1) Cropper, J., The malarial fevers of Jerusalem and their prevention. (Journ. of Hyg. Vol. 5. 1905.) — Note on a form of malarial parasite found in and around Jerusalem. (Journ. of trop. med. 1. 5. 1905.) — Further note on a form of malarial parasite found in and around Jerusalem. (The Journ. of trop. med. 1. 11. 1905.)

2) Yofé, H., Essai de quininisation préventive. (Revue de méd. et d'hygiène trop. 1912. T. 9. No. 1.)

kanischen Philanthropen Nathan Strauss in Hédéra ein „Health Bureau" einzurichten. Bei meiner Ankunft war er aber bereits in Jerusalem mit Malariaarbeiten beschäftigt, und das „Health Bureau" wurde bald auch dorthin verlegt.

Diese skizzierten früheren Arbeiten gestatteten noch keine Beantwortung der Frage: Ist in Jerusalem eine systematische Massenbehandlung nach allen Regeln der Wissenschaft möglich, und wie kann sie durchgeführt werden?

Um zunächst festzustellen, ob den notwendigen **Blutuntersuchungen** ernstlicher Widerstand entgegengesetzt würde, haben wir in allen Schichten der Bevölkerung Blutentnahmen gemacht. Es mußte ja von vornherein mit Unverstand, Aberglauben, Abneigung gegen die Europäer u. drgl. gerechnet werden. In den Schulen und Anstalten machten die Blutentnahmen keine erheblichen Schwierigkeiten, ebensowenig in den meisten der besuchten Häuser der Araberstadt, noch weniger bei den Europäern. In der Araberstadt ließen wir unseren Besuch durch Einwohner (Lehrer dgl.) vorbereiten. Bald waren wir in manchen Straßenvierteln bekannt. Und wir wurden sogar auf der Straße angehalten zur Blutentnahme (Taf. V, Fig. 16). Selbst in einem Araberdorfe bei Sarona konnten wir nach Einführung durch einen Deutschen aus Sarona gegen Versprechen von Chinin Blutproben entnehmen (Taf. V, Fig. 15).

Bei den vornehmen Mohammedanerfrauen dagegen war die Sache schon schwieriger. Daselbst wurden die Blutpräparate von den weiblichen Mitgliedern der Expedition gemacht. In der Regel darf der Arzt auch in die Wohnungen der Mohammedanerfrauen hinein; in der Poliklinik entschleierten sich die Frauen ohne Bedenken bei den Blutentnahmen.

Ueber den Zweck der Abnahme von Blutströpfchen hatten viele Leute merkwürdige Ansichten: manche glaubten, wir machten von dem Blut Medizin; andere waren der Meinung, die kleine Operation sei eine Impfung; andere aber auch glaubten, daß wir später mit dem Blut irgendwie zaubern könnten und waren daher mißtrauisch. So weigerten sich z. B. in einem Beduinen-Zigeuner-Lager, nachdem 15 Blutentnahmen vorgenommen waren, plötzlich die anderen; ja sie nahmen sogar eine feindliche Haltung gegen meinen Assistenten an, so daß Weiteruntersuchungen abgebrochen werden mußten. — Manche Kinder waren sehr ängstlich und weinten bei der Untersuchung.

Im allgemeinen kann man aber sagen, daß unüberwindliche Schwierigkeiten sich den systematischen Blutuntersuchungen auf die Dauer kaum entgegenstellen werden. Natürlich wird es immer Leute geben, die sich weigern; das ist ja auch in anderen Ländern, selbst in Europa der Fall; aber die Renitenten bleiben entschieden in der Minderzahl. Und vielleicht gelingt es durch systematische Aufklärungsarbeit und Mithilfe der Regierung, die meisten derselben willig zu machen. Ein wichtiges Hilfsmittel zur Ueberwindung von Widerstand ist auch meist bei Erwachsenen ein kleines Bachschisch (Trinkgeld); bei Kindern helfen Bonbons über manche Tränen hinweg.

Es galt nun weiterhin festzustellen, ob eine konsequente **Behandlung in größeren Massen,** z. B. von Schulen, Internaten etc. möglich ist. Unsere in dieser Hinsicht vorgenommenen Vorversuche hatten ein befriedigendes Resultat. In mehreren Internaten und

Tabelle III.

Behandlungsliste des Internates Thalita Kumi.

			4. 11.	5. 11.	6. 11.	7. 11.	8. 11.	9. 11.	10. 11.	15. 11.	16. 11.	22. 11.	23. 11.	29. 11.	30. 11.	6. 12.	7. 12.	13. 12.	14. 12.	20. 12.	21. 12.	27. 12.	28. 12.
1) Viktoria Chilingirian	10 Jahre	Tertiana	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
2) Schwester Kathrine Weise	66 „	Tertiana	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
3) Sarife Mansur	14 „	Tropica	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
4) Jasmine Nasar	12 „	Tropica	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
5) Sultane Kubdi	13 „	Quartana	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
6) Männe Chalil Asfur	11 „	Tertiana	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
7) Anastasia George	13 „	Quartana	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
8) Machbub Tachbub	10 „	Tertiana	|	|	|	|	|	|	|	|	|	—	|	|	|	|	|	|	|	—	|	|
9) Nasira Meslach	11 „	Quartana	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
10) Naëme Gibran	9 „	Tropica	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
11) Elene Jusef	8 „	Tertiana	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
12) Olga Jakub	8 „	Tropica	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
13) Mirjam Jusef	10 „	Quartana	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
14) Jamile Said	9 „	Tropica	|	|	|	|	|	|	|	|	—	—	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
15) Maria Faddul	8 „	Tropica	|	|	|	|	|	|	|	|	—	—	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
16) Arabie Abdurrahman	7 „	Tropica	|	|	|	|	|	|	|	|	—	—	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
17) Amelie Isse	7 „	Tropica	|	|	|	|	|	|	|	|	—	—	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
18) Fatme Abdirrahman	7 „	Tropica	—	—	|	|	—	—	|	|	—	—	—	|	|	|	—	—	|	|	|	|	|	|	|
19) Fatme il Abd	8 „	Tropica	|	—	|	|	—	—	|	|	—	—	—	|	|	|	—	—	|	|	|	|	|	|	|
20) Martha Selim	6 „	Tertiana	|	—	|	|	—	|	—	|	|	|	|	|	|	—	—	|	|	|	|	|	|	|
21) Samu Chilingirian	8 „	Tertiana	|	—	|	|	—	|	—	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
22) Mirjam Maximos	14 „	Tertiana	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
23) Girwantuhi Kafeljau	4 „	Quartana	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|

| bedeutet: Chiningabe; — bedeutet: Chiningabe versäumt.

Tagesschulen hatten wir durch Blutuntersuchung aller Kinder zunächst die Parasitenträger ausfindig gemacht. Diese wurden in eine Liste eingeschrieben, in der gleichzeitig ein Behandlungsschema eingezeichnet war, derart, daß die Behandlungstage oben am Kopfe der Liste standen; die Verabfolgung der Chiningaben wurde jedesmal gleich in Rubriken neben dem Namen eingetragen, so daß nachher leicht ersichtlich war, welche Kinder die Kur regelmäßig durchgeführt hatten und welche nicht. Die im Internat Talitha Kumi geführte Liste ist als Beispiel wiedergegeben (Tabelle III). Das vielen Schulen von uns gratis zur Verfügung gestellte Chinin[1]) wurde von den Lehrern bzw. Lehrerinnen und Schwestern, die für die Aktion viel Interesse zeigten, an den Chinintagen verteilt. Die folgenden **Behandlungsmethoden** wurden probiert: zunächst an 5—6 aufeinanderfolgenden Tagen die erforderliche Chinindosis, dann jeden 6. und 7. Tag während der folgenden 2—3 Monate dieselbe Dosis. Gegeben wurde teils Chinin. sulfuricum, teils Chinin. hydrochloricum, teils Chinin. tannicum in Zimmerschen Schokoladentabletten. Ich will die Versuche nicht alle einzeln aufzählen, sondern nur einige Resultate mitteilen: Die zuerst genannte Behandlung mit Nachbehandlung jeden 6. und 7. Tag wirkte im allgemeinen gut bei den Internierten, dagegen weniger zufriedenstellend in einigen Tagesschulen, in denen die Kinder unregelmäßig kamen. So z. B. hatten in der Kleinkinder-Tagesschule des Waisenhauses Talitha Kumi von 18 behandelten Kindern bei der Nachuntersuchung 30 Tage nach Beginn der Behandlung noch 11 Parasiten, und zwar hauptsächlich diejenigen, die manchmal an Chinintagen gefehlt hatten. Nur 1 Kind (mit Quartana und Tropica), das regelmäßig Chinin bekommen hatte, behielt auch noch längere Zeit Parasiten. Auch in anderen Schulen machten wir einige solche Beobachtungen von anscheinender Chininresistenz (vgl. p. 53). Bevor man eine Chininresistenz behauptet, müßten allerdings, streng genommen, die Resorptionsverhältnisse geprüft werden. — Die kleinen Kinder der Tagesschule in Talitha Kumi hatten ebenso wie die größeren Internierten das Chinin in Lösung ohne Geschmackskorrigens bekommen; sie tranken die bittere Medizin anscheinend nicht ungern, zumal da es nachher arabisches Leckerli gab. Im Gegensatz zu den Resultaten in der Kleinkindertagesschule stehen die bei den größeren Kindern (meistens Internierte). Bei der Nachuntersuchung 30 Tage nach Beginn der Behandlung hatten von 22 Behandelten nur noch 4 Parasiten (Tropica); von diesen waren aber 3 gerade die Tagesschülerinnen, die wiederholt beim Chininnehmen gefehlt hatten (s. Tabelle III, No. 16, 18 und 19). — Aehnliche gute Resultate hatten wir auch im Syrischen Waisenhaus, woselbst nach derselben Methode je 0,5 g Cinin. sulf. gegeben wurde. Bei der Nachuntersuchung hatten von 26 Behandelten nur noch 4 Personen Parasiten, und zwar waren es solche über 12 Jahre, bei denen offenbar die Dosis 0,5 g zu klein war. Sie erhielten dann später je 0,75 g.

Weniger zufriedenstellend als das letztere war das Resultat der Behandlung in der Eingeborenen-Schule des deutschen Jerusalemvereins am Muristan. Daselbst wurde das von der Firma Zimmer & Co. freundlichst zur Verfügung gestellte Schokoladenchinin nach

1) Die Firmen Boehringer, Dr. Kade und Zimmer hatten uns in bereitwilligster Weise größere Chininmengen gratis zu Versuchszwecken mitgegeben. Ferner hatte die Firma Riedel-Berlin größere Mengen Dalmatiner Insektenpulver und die Firma Dr. Noerdlinger-Floersheim Saprol zur Verfügung gestellt.

derselben Methode gegeben, und zwar jedesmal etwa die dem Alter entsprechenden Dezigrammdosen, bei Kindern über 10 Jahren je 3 Tabletten à 0,3 g. Die Kinder nahmen die vom Hauptlehrer verteilte Schokolade sehr gerne (Taf. VI, Fig. 20). Anfangs schien auch der Erfolg vielversprechend. Bei der ersten Nachuntersuchung nach 30 Tagen hatten von 31 behandelten Kindern noch 9 Parasiten, darunter wieder hauptsächlich die unregelmäßig Behandelten. Bei der 2. Nachuntersuchung nach 90 Tagen hatten wieder 13 Kinder unter 31 Untersuchten Parasiten, und zwar sämtlich Tropica- und Quartanaparasiten; die Tertiana hatte also besser reagiert, während bei Tropica und Quartana bei der Nachbehandlung mit Zimmerschen Schokoladetabletten jeden 6. und 7. Tag keine Dauerheilung erreicht wurde[1]), zumal wenn die Kinder mitunter an den Chinintagen fehlten.

Günstiger dagegen war wieder das Behandlungsresultat in der englischen Evelina de Rothschild-Schule. Auf Veranlassung der energischen Schulvorsteherin, Miss Landau, war die Behandlung von einer Lehrerin gewissenhaft durchgeführt worden. Die Kinder erhielten Chinin zunächst an 5 aufeinanderfolgenden Tagen, dann 6 Wochen lang an je 2 folgenden Tagen. Die Chinindosen waren für Kinder über 10 Jahren je 2mal 0,4 g, für Kinder unter 10 Jahren je 2mal 0,25 g. Bei der Nachuntersuchung etwa 2 Monate nach Beginn der Behandlung hatten von 88 untersuchten Kindern nur noch 6 (3 nur noch Gameten, Halbmonde) Parasiten, die übrigen 82 waren also bei der Behandlung parasitenfrei geworden.

In einer anderen, der armenischen Tagesschule, wurde unter Leitung des Schularztes Dr. Pascal die Methode der täglichen Chininverabreichung versucht. Von einer Lösung 6,0 g Chinin. sulfuricum, 300 g Aqu. dest. wurde täglich 1 Eßlöffel (= 0,3 g Chinin) gegeben, natürlich nur den anwesenden Kindern. Das Resultat war befriedigend: Bei der Nachuntersuchung der 13 behandelten Kinder nach 50 Tagen hatten noch 2 wenige Parasiten, je 1 Quartana und Tropica. Ich erhielt diese Blutpräparate nach Deutschland nachgesandt, leider ohne Angaben, ob die beiden Kinder die täglichen Gaben regelmäßig bekommen haben und wie lange. Jedoch schrieb mir Dr. Pascal folgendes: „Les parents de plusieurs enfants sont venus me trouver et m'ont déclaré que depuis l'administration de la quinine les petits se portaient beaucoup mieux."

Solche freiwilligen Anerkennungen von seiten der Eltern sind ein gutes Omen. Wir wollen ja gerade durch die Schulbehandlung einen **erzieherischen Einfluß** ausüben und erreichen, daß die Eltern das gute Resultat an ihren Kindern sehen und daraufhin auch selbst mit den anderen Kranken der Familie zur Behandlung kommen. Auf diese Weise hoffen wir Eingang in viele Häuser, namentlich der weniger leicht zugänglichen Araber, zu bekommen. Daß diese Taktik richtig ist, haben wir z. B. in der Muristanschule gesehen, woselbst nach Einleitung der Schulkinder-Behandlung eine Anzahl Frauen mit ihren Kindern erschienen, um sich auch untersuchen und behandeln zu lassen. Weiterhin wurden wir von dort aus in Araberhäuser zu Untersuchungen geholt.

Aber auch noch ein anderer Nebenzweck wird bei der Schulbehandlung verfolgt, nämlich die Gewinnung der Sympathieen der Lehrer und Lehrerinnen. Denn gerade sie können im

1) Eine ähnliche Erfahrung hatte ich früher auch schon bei Quartana in Nordwestdeutschland gemacht.

Kampfe gegen die Malaria wertvolle Hilfe leisten, nicht nur bei der Chininausteilung, sondern vor allen Dingen auch durch aufklärende und Propagandatätigkeit im Volke. Die Lehrer und Lehrerinnen erkannten die Malariabekämpfung dankbar an. Sie freuten sich mit uns an den guten Resultaten der Kinderbehandlung. Wenn auch nicht sofort voller Erfolg auf der ganzen Linie bei den Vorversuchen zu verzeichnen war, so sind doch durch die von uns angeratene Behandlung eine ganze Anzahl Kinder von ihren Malariaparasiten befreit worden. Der Erfolg war auch äußerlich bei den Kindern unverkennbar, nicht nur im Aussehen — das grau-gelbliche Aussehen machte einer gesunden Gesichtsfarbe Platz —, sondern auch im Ernährungszustand (gesteigerter Appetit!) und im Fortkommen in der Schule: teilnahmlose, meist müde Kinder wurden aufmerksam und lernten plötzlich gut usw. Daß auch die Kinder selbst Dank wußten, zeigten sie bei den Nachuntersuchungen, bei denen es kein Weinen mehr gab, vielmehr die Kleinen sich häufig herandrängten, um mir mit Handgeben und Handküssen nach arabischer Sitte zu danken.

Aus den angedeuteten Vorversuchen ergibt sich, daß mit Hilfe der Schulärzte und Lehrer bzw. Anstaltsleiter sich ohne große Schwierigkeiten in den Wohltätigkeitsanstalten, Hospizen, Schulen u. dgl. eine Malariabekämpfung mit systematischer Chininbehandlung nach den bekannten Regeln wird durchführen lassen. Das Chinin müßte natürlich gratis zur Verfügung gestellt werden. Während den Schulärzten die Ueberwachung der Ausführung der Behandlung zukäme, müßten die Blutkontrollen von der Untersuchungsstation ausgeführt werden. Dabei genügt zur Feststellung aller Parasitenträger nicht die einmalige Blutuntersuchung wie bisher, sondern es müßten bei allen durch Blässe, Fieber, Milzschwellung oder Blutbefund (Polychromatophilie und Vermehrung der großen Mononukleären) Verdächtigen wiederholte Untersuchungen vorgenommen werden. Alle ermittelten Infizierten müßten in Listen nach dem p. 73 mitgeteilten Schema fortlaufend geführt werden.

Es fragt sich nun noch, welcher Methode der Nachbehandlung man den Vorzug geben soll. Nach meiner Ansicht sollte man in den Tagesschulen tägliche Chinindosen von 0,2 und 0,3 g (für Kinder) verabreichen, nachdem 5—7 Tage lang täglich die dem Alter entsprechenden Dezigrammdosen bzw. 1,0 g bei Kindern über 10 Jahren gegeben worden sind. Die Gesamtbehandlungsdauer müßte mindestens 2, besser 3 Monate betragen. Bei täglicher Chininverabreichung fällt es nicht so sehr ins Gewicht, wenn die Kinder mal einige Tage fehlen, während es bei der Behandlung am 6. und 7. Tage jedesmal ein wichtiger Ausfall ist, wenn die Kinder gerade an den Chinintagen nicht anwesend sind. Die Chininmengen sind bei beiden Methoden ungefähr dieselben.

Bei den Internierten, denen mit Sicherheit regelmäßig Chinin gegeben werden kann, kann auch die Nachbehandlung mit den größeren Dosen jeden 6. und 7., oder auch jeden 4. Tag durchgeführt werden. Aber vielleicht empfiehlt es sich, der Einheitlichkeit halber allgemein die **tägliche** Nachbehandlung einzuführen, zumal sich neuerdings gewichtige Stimmen für diese Methode eingesetzt haben (s. Ruge, Verhandlungen d. Deutschen Tropenmed. Gesellschaft, 4. Beiheft z. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1912). Erwachsene müßten dann täglich in der Nachbehandlungsmethode je 0,3 g nehmen.

Eine weitere Methode wäre noch die, sämtlichen Kindern ohne Rücksicht auf Blutbefund Chinin zu geben, jedenfalls zu Beginn der Malariazeit. Ob sich das würde durchführen lassen, müssen erst Vorversuche zeigen.

Außer den Kindern müßten natürlich nach Möglichkeit auch die erwachsenen Parasitenträger ausfindig gemacht und behandelt werden. Denn wie die Zahlen auf p. 49 ergeben, ist die Malaria in Jerusalem nicht wie in den meisten Tropenländern fast nur eine Kinderkrankheit. Wenn die Gesamtzahl der von uns gefundenen Erwachsenen mit Parasiten bedeutend geringer ist als die der Kinder, so kommt das daher, weil wir um $^1/_3$ weniger Erwachsene untersucht haben. Unsere nach der Zahl der Untersuchten ausgerechneten Prozentzahlen der Infizierten waren: 23,1 Proz. der untersuchten Erwachsenen über 14 Jahren und 27,3 Proz. der Kinder unter 14 Jahren.

Die Ermittelung und Behandlung der Erwachsenen und der keine Schule besuchenden Kinder mit Parasiten wird sich nun wesentlich schwieriger gestalten als bei den Schulkindern. Immerhin wäre es nach einer mit Kollegen Cana'an gemachten Zusammenstellung schon ohne große Schwierigkeiten möglich, in sämtlichen Schulen, Klöstern, Wohltätigkeitsanstalten etc. zusammen etwa 8000 Menschen, davon mindestens $^3/_4$ Kinder, in Beobachtung bzw. Behandlung zu nehmen. Unter diesen wären im Laufe des Sommers ohne Bekämpfung wohl etwa 2500—3000 Malariakranke zu erwarten. Durch systematische Behandlung aller dieser würde schon eine große Zahl von Infektionsherden unschädlich gemacht. Selbstverständlich müßte die Behandlung bereits in der Vormalariazeit, etwa im Mai, beginnen. Je weniger Menschen mit Parasiten die Anophelen in den ersten Sommermonaten finden, desto geringer ist natürlich auch die Uebertragungsgefahr.

Selbstverständlich kann man sich nicht mit einer Bekämpfung der Malaria unter den genannten 8000 begnügen. Das wäre vielmehr nur ein Anfang.

In einem einzigen Jahre gleichzeitig alle Parasitenträger in Jerusalem ausfindig zu machen und zu behandeln, ist ein Ding der Unmöglichkeit. Das bedarf jahrelanger mühsamer systematischer Arbeit. Es gehört dazu eine Organisation, die ihre Ausläufer bis in die verborgensten Winkel der Stadt, bis zu den ärmsten Höhlenbewohnern hin aussendet. Dazu bedarf es nicht nur der unterstützenden Mitwirkung sämtlicher Behörden und Aerzte aller Nationen und Konfessionen, sondern es müßten auch die verschiedensten Ermittelungsstellen geschaffen werden, deren lokale Leitung in der Hand von Aerzten zu liegen hätte, die bei der betreffenden Bevölkerungsschicht besonderes Vertrauen genießen. Dem Leiter der Ermittelungsstelle müßten weibliche Hilfskräfte, am besten einheimische, zur Verfügung stehen, und zwar je nach Bevölkerungsschicht arabische, jüdische oder europäische. Dabei ist zu bedenken, daß das „Rote Kreuz"-Abzeichen der europäischen Schwestern von den Mohammedanern nicht gern gesehen ist. Die Träger werden eventuell für Missionsangehörige gehalten. Will man also nicht den „Roten Halbmond" tragen, dann empfiehlt es sich für Schwestern, ohne Abzeichen zu bleiben.

Vorausgesetzt, daß die Mittel hierfür zur Verfügung gestellt werden, ist für die kommende Malariasaison die versuchsweise Einrichtung einer solchen **Ermittelungsstelle in der inneren Araberstadt** unter Leitung

des daselbst allgemein Vertrauen genießenden einheimischen Arztes Dr. Cana'an geplant. Die schon bestehende Poliklinik in der inneren Stadt soll zu einer solchen Malariastation erweitert werden.

Gelingt es ferner auch noch, die geistlichen Oberhäupter aller Konfessionen zur Mitarbeit heranzuziehen, dann könnten Arzt, Lehrer und Priester bei der Ermittelung der Kranken und bei der Aufklärung des Volkes viel Gutes schaffen. Insbesondere könnten diese beim Volke angesehenen Persönlichkeiten vermöge ihres Einflusses auch noch bei der Besserung der allgemein-hygienischen Verhältnisse, bei der Erziehung des Volkes in hygienischem Sinne und bei der Bekämpfung der Mücken und ihrer Larven wesentlich helfen.

ad 2. Bekämpfung der Malaria-übertragenden Anophelesmücken.

Die Lebens- und Entwickelungsbedingungen der Jerusalemer Anophelen sind — soweit von uns beobachtet — bereits auf p. 55 ff. eingehend geschildert worden. Aus dem daselbst Mitgeteilten und aus den Abbildungen (Taf. II—IV) ergibt sich ohne weiteres, daß es unmöglich ist, gegen die Anophelen in allen Zisternen nach demselben gleichen Schema vorzugehen.

Wie kann man die Anophelen in Jerusalem bekämpfen?

Antwort: a) Durch Vernichtung im geflügelten Stadium. b) Durch Vernichtung der Larven bzw. Verhinderung der Eiablage und c) kommen noch persönliche Schutzmaßregeln gegen die Mückenstiche in Frage.

a) **Die Vernichtung der geflügelten Mücken** in Jerusalem stößt auf außerordentliche Schwierigkeiten. Es ist natürlich unmöglich, alle Wohnungen sachgemäß auszuräuchern. Noch weniger lassen sich die Anophelen in allen Zisternen oder an sonstigen Aufenthaltsorten (in dunklen Gängen, Ställen u. dgl.), deren völlige Abdichtung für die Räucherung vielfach unmöglich ist, vernichten. Ganz abgesehen davon, daß es nicht so leicht sein dürfte, ein Verfahren zu finden, bei dem der entwickelte mückentötende Rauch nichts schadet. Nach unseren Versuchen lassen sich Zisternen mit dem Schwefeldesinfektor „Hya" der Chemischen Industrie- und Handelsgesellschaft, Dresden, in einer schwimmfähigen Modifikation leicht ausschwefeln. Schwefel darf aber wohl kaum zur Verwendung gelangen, da das Wasser leicht schweflige Säure aufnimmt[1]). Eher ließe sich vielleicht Dalmatiner Insektenpulver verwenden, zumal ja eine Mückenbetäubung für den Erfolg genügt; denn, fallen die betäubten Mücken hinunter in das Wasser, dann sind sie erledigt. Es entsteht aber weiter noch die Frage, ob nicht eventuell durch die ins Wasser hinabfallenden und später verwesenden Mücken ein Schaden für das Wasser (Infektionsgefahr mit Typhus-, Dysenteriebacillen u. dgl.) herbeigeführt werden kann. — Versuche mit Insektenpulver-Räucherungen sind im Gange.

Zur Anwendung des Giemsaschen Ausspritzungsverfahrens fanden wir noch keine geeignete Gelegenheit.

Aber selbst wenn es gelingen sollte, ein praktisch durchführbares Verfahren der Mückenvertilgung in den Zisternen zu finden, dann wäre damit erst ein Teil der Anophelen vernichtet.

---

1) Cropper (Journ. of Hyg. 1905) hatte Ausschwefeln der Zisternen als harmlos empfohlen, "is found not at all to affect the water for drinking purpose".

Eine sichere Methode, nach der sich in Jerusalem systematisch die Anophelen im geflügelten Stadium vernichten ließen, kennen wir bisher noch nicht.

b) Auch **die Vernichtung der Larven in den Zisternen** läßt sich — jedenfalls vorläufig — nicht allgemein durchführen. Immerhin liegen da Möglichkeiten vor, wie die Bewohner der amerikanischen Kolonie (s. p. 80) in Jerusalem praktisch bewiesen haben.

Man könnte die Zisternen alle 2—3 Wochen mit einer dünnen Petroleumschicht[1]) übergießen, die den Larven die Möglichkeit zu atmen und somit ihre Existenzbedingung nimmt. Das geht natürlich aber nur dann, wenn das Wasser nicht, wie in den meisten Zisternen, mit Eimern nach oben, sondern mit Pumpen aus der Tiefe entnommen wird. Wir selbst haben uns von der Möglichkeit der Larvenvertilgung in dieser Weise in 2 Zisternen überzeugt und konnten auch bestätigen, daß das Wasser darunter nicht leidet, daß es nach Verdunsten des Petroleums keinen Petroleumgeschmack behält.

Ob eventuell eine Larvenvernichtung in Zisternen durch kleine Fische u. dgl. möglich wäre, bedarf einer Prüfung. Ich fürchte aber, nach Einsetzen von Fischen würde sich, wenn sie sich überhaupt in den dunklen Zisternen halten, ein schwunghafter Angelsport ausbilden.

Ein anderer Weg der Larvenbekämpfung in den Zisternen wäre die Verhinderung der Eiablage. Gelänge es, alle Zisternen mückensicher abzuschließen und abgeschlossen zu halten, dann könnten keine Anophelen hinaus, und vor allen Dingen auch nicht zur Eiablage hineingelangen.

Die Schwierigkeiten eines solchen allgemein durchgeführten Zisternenabschlusses mit Drahtgaze oder dgl. sind aber geradezu unüberwindlich: Erstens wegen der Verschiedenheit der Form und Anlage der Zisternen: Für jede Zisterne müßte eine andere Form des Verschlusses gemacht werden, ganz abgesehen davon, daß jede Zisterne verschiedene Oeffnungen nach der Außenwelt hat, und daß bei den meisten Zisternen erst kostspielige vorbereitende Maurerarbeiten notwendig wären, damit die Verschlüsse auch genau einpassen. Denn die kleinsten seitlichen Oeffnungen würden genügen, um die Mücken hinein- bzw. herauszulassen. Wir konnten das z. B. an eisernen Deckelverschlüssen von Klärgruben im Oelberghospiz beobachten. Gegen Abend kamen Culex-Mücken, die offenbar drinnen ihre Brutstätten hatten, unter den Deckeln an der Seite durch ganz schmale Spalten und durch ein kleines Loch in der Mitte des Deckels in großer Zahl heraus. In kurzer Zeit hatten wir in einem über dem Deckel aufgestellten Gazekäfig mehrere hundert Mücken gefangen. — Zweitens würde der mückensichere Verschluß der Zisternen illusorisch bleiben, wenn nicht gleichzeitig Pumpen zur Wasserentnahme angelegt würden. Die Kosten für diese Anlagen bei sämtlichen Zisternen Jerusalems wären aber enorm. Wer würde ferner die laufenden Reparaturen bezahlen und die Verschlüsse der Zisternen dauernd kontrollieren? Und wer bietet schließlich die Garantie, daß die Pumpen auch benutzt und die Zisternen wirklich dauernd geschlossen bleiben?

Ich halte eine allgemeine Einführung von wirklich sachgemäßen Zisternenverschlüssen und Pumpenanlagen

1) Auch schon von Cropper empfohlen; Petrolisieren hatte sich in Jaffa nach Cropper bewährt.

in **ganz** Jerusalem für undurchführbar. Die einmaligen Kosten dürften weit mehr als eine halbe Million betragen, und die jährlichen laufenden Ausgaben wären auch nicht gering. Eine solche Summe ließe sich besser für die Vorbereitung einer zentralen Wasserversorgung verwerten.

In abgeschlossenen Europäerkolonieen, auch in den außerhalb der Stadtmauer angelegten jüdischen Kolonieen ließe sich das Zisternenexperiment ausführen, und es soll auch im kommenden Sommer gemacht werden. Mit der **Tempeler-Kolonie Rephaim** (am Bahnhof Jerusalem) sind bereits Verabredungen in diesem Sinne getroffen. Die Gemeinde ist bereit, an allen Zisternen Pumpen anzubringen, soweit noch nicht vorhanden. Fast alle Hausbesitzer wollen sogar die Anlage selbst bezahlen. Wir würden dann für den mückensicheren Abschluß der Zisternen sorgen. Diese Bereitwilligkeit der von den Herren Rohrer und Paulus geleiteten Tempelgemeinde zu dem wissenschaftlich sehr wichtigen interessanten Versuch kann nicht dankbar genug anerkannt werden. Aehnliche Versuche werden auch vielleicht im Syrischen Waisenhaus und in dem Mädchenheim Talitha Kumi gemacht.

c) **Als persönliche Schutzmaßregeln gegen die Mückenstiche** kommen Drahtgazeeinsätze in Türen und Fenstern sowie insbesondere Anwendung von Moskitonetzen des Nachts in Betracht. Die letzteren sind bei den Europäern in Jerusalem und überhaupt in Palästina allgemein in Gebrauch. Allerdings war die Art der Anwendung sehr häufig nicht einwandsfrei. Denn: 1) Viele Moskitonetze hatten, namentlich in manchen Hotels, bis hühnereigroße Löcher. 2) Die Netze waren vielfach nicht richtig aufgehängt, sie hingen außen über dem Rahmen, so daß sie nicht sicher abschließend unter die Matratze gesteckt werden konnten; manche waren sogar in der Mitte geteilt zum Einsteigen; der sichere Verschluß war dann noch schwieriger. 3) Das Absuchen der Netze nach Moskitos abends vor dem Schlafengehen ließ meistens zu wünschen übrig.

Während meines Jerusalemer Aufenthaltes habe ich den persönlichen Mückenschutz streng durchgeführt und kein Chinin genommen; ich blieb malariafrei. — Damit soll aber keineswegs ein Beweis dafür ausgesprochen sein, daß das Moskitonetz allein zum Malariaschutz in Jerusalem genügt. Denn einerseits war die Malariainfektionsgefahr für uns nicht allzu groß, andererseits wäre auch eine Infektion durch Stiche am Tage (s. p. 58) und abends bei Besuchen in der Stadt möglich gewesen; und so kann es sich um einen Glückszufall handeln.

Die 3 anderen Expeditionsmitglieder nahmen Chinin und gebrauchten auch Moskitonetz; auch sie blieben gesund; insbesondere vertrugen die beiden weiblichen Expeditionsmitglieder die täglichen Chinindosen von 0,2 g Chinin. hydrochl. (Zimmersche Kapseln) bzw. 0,3 g Chininschokolade (Zimmer) ohne irgendwelche Beschwerden. Herr Pannwitz jun. nahm jeden 6. und 7. Tag je 5mal 0,2 g Chinin. hydrochl. (Zimmer); Beschwerden, aber nicht ernster Art, bestanden nur an den Chinintagen.

Im allgemeinen gewährt das regelrecht angewendete Moskitonetz des Nachts einen guten Schutz gegen die Malariainfektion.

Hier soll noch kurz auf die in der **amerikanischen Kolonie** in Jerusalem bereits seit vielen Jahren streng durchgeführten **Anti-Moskitomaßnahmen** hingewiesen werden. Die Amerikaner wohnen ganz an der Peripherie der Außenstadt in sauberen, gut gehaltenen Häusern, an denen die täglich zu öffnenden Fenster mit Moskitodrahtgaze geschützt sind; auch die Türen haben Drahtgazeschutz; allerdings ist dieser nicht immer absolut sicher mit Doppeltüren. Einem

Mitgliede der Kolonie liegt die Ueberwachung der Mückenbrutplätze ob, d. h. die Zerstörung der Larven mit Petroleum sowie die Ueberwachung des Abschlusses der Zisternen: etwa alle 14 Tage wird nach Larven in den Zisternen gesucht; die larvenenthaltenden Zisternen werden dann mit einer dünnen Petroleumschicht übergossen. Das Wasser wird mit Pumpen entnommen.

Nach den uns in der amerikanischen Kolonie gemachten zuverlässigen Angaben ist unter den Amerikanern in den letzten Jahren kein Malariafall vorgekommen. Man muß dies auffallende Resultat auf die Mückenschutz- und Vertilgungsmaßnahmen zurückführen, da Chinin von den Amerikanern in Jerusalem prinzipiell nicht genommen wird. Wir hatten Gelegenheit, von den etwa 100 Bewohnern der Kolonie 69 zu untersuchen; sie waren sämtlich parasitenfrei, insbesondere auch die Kinder. Dagegen wurden in nicht allzuweiter Entfernung von der amerikanischen Kolonie in nicht geschützten Araberhäusern wiederholt Malariafälle festgestellt. Weiterhin litten auch die benachbarten jüdischen Kolonieen (Beth Israel) sehr unter Malaria. Und auch unter den Amerikanern selbst waren schwere Malariafälle vor Einführung der Antimoskitomaßnahmen an der Tagesordnung. Wir haben hier also anscheinend ein glänzendes Beispiel des Erfolges der Malariaverhütung durch strenge Maßregeln gegen die übertragenden Mücken mitten in einer Fiebergegend.

Zweifellos lassen sich nach diesem Muster, wenigstens in den Europäerdistrikten außerhalb der Mauer, Antimoskitomaßnahmen durchführen, und sie sollen auch in bestimmten Bezirken in Angriff genommen werden, wenn sämtliche in Frage kommenden Hausinhaber mitmachen wollen.

Nebenbei sei auch erwähnt, daß die Amerikaner besondere Sorgfalt der Abortüberwachung widmen, die ebenfalls von Mitgliedern der Kolonie freiwillig ausgeführt wird. Das angewendete trockene Tonnenverfahren ist mustergültig.

IX. Zusammenfassung.

1) Die 3 Malariaarten sind unter allen Schichten der Bevölkerung Jerusalems, am meisten bei den Juden und Arabern, sehr verbreitet; am häufigsten fand sich die Malaria tropica, nächstdem M. tertiana und quartana. [In Bethlehem überwog M. tertiana (ca. $^3/_4$ aller Fälle).]

2) Die Malaria hat in den letzten Jahren eher zu- als abgenommen. In manchen Bezirken sind 30—40 Proz. der Einwohner, vielleicht noch mehr, im Sommer infiziert. Unter Schulkindern wurden bei einmaliger Untersuchung bis 37,4 Proz. Infizierte gefunden.

3) Auch in der Umgebung Jerusalems ist Malaria häufig.

4) Die übertragende Anopheles findet sich im geflügelten Stadium in Zisternengewölben, in Wohnungen, namentlich in dunklen Eingeborenenhäusern, ferner in dunklen, vor Wind geschützten Gängen und vereinzelt auch in Ställen.

5) Die Anopheles-Entwickelung findet fast ausschließlich in den Regenwasserzisternen statt, welche die Bevölkerung mit Wasser versorgen. Anopheles-Larven wurden am häufigsten und zahlreichsten in Landwasserzisternen gefunden, und zwar sowohl in alten als in neuen modernen.

6) Die Jerusalemer Malaria verläuft im allgemeinen weniger bösartig als die Malaria in vielen Tropenländern, insofern als reine Malariatodesfälle nicht so häufig sind. Dagegen sind Todesfälle an Folgekrankheiten oder Komplikationen, namentlich bei Kindern, zahlreicher.

7) Schwarzwasserfieber kommt ebenfalls in Jerusalem und Umgegend vor, die Häufigkeit hat aber gegen frühere Jahre abgenommen.

8) In Bethlehem und Beth Sahur wurden zum ersten Male einige Recurrens-(Rückfallfieber-)Fälle mit Spirochäten erkannt.

9) Darmparasiteninfektionen sind sehr häufig.

In 2 Fällen konnten aus Stuhl bzw. Urin Typhusbacillen einwandsfrei gezüchtet werden. Verschiedene weitere positive Widal-Reaktionen zeigten, daß Abdominaltyphus in Jerusalem mehr verbreitet zu sein scheint, als viele Aerzte annehmen. Möglicherweise sind auch manche der sogenannten 3-wöchigen „kontinuierlichen Fieber" Typhus oder Paratyphusinfektionen, vielleicht auch Maltafieber.

10) Von anderen Infektionskrankheiten sind namentlich Tuberkulose, Trachom und Dysenterie sehr verbreitet. Auch die Leprafälle sind ziemlich zahlreich. Im Sommer herrschte eine heftige Dengueepidemie.

11) Kinder-Kala-Azar (Splenomegalia infantum) kommt vielleicht vor, konnte aber noch nicht durch Parasitenbefund bewiesen werden. — Bilharziose scheint nicht selten zu sein.

12) Die Ueberträgerin des Pappatacifiebers (Phlebotomus papatasii), in Jerusalem „Sandfliege" genannt, ist in manchen Sommertagen in gewissen Stadtteilen bzw. Häusern sehr zahlreich. Krankheiten mit dem Bilde des Pappatacifiebers wurden von uns und anderen beobachtet. Die Beobachtungen können aber noch nicht als abgeschlossen gelten.

13) Die Tollwut kommt in Jerusalem und Palästina vor. Jährlich sollen 30—40 Gebissene nach Kairo zur Behandlung geschickt werden. Die Gründung einer Tollwut-Schutzimpfungsstation ist unbedingt erforderlich. [Zusatz bei der Korrektur: Mitte März eröffnet (s. p. 67).]

14) Die allgemein-hygienischen Zustände in Jerusalem lassen sehr viel zu wünschen übrig.

15) Bisher sind keine durchgreifenden systematischen Seuchen- und insbesondere Malaria-Bekämpfungsmaßnahmen in Anwendung gekommen.

16) Als wichtigste Malaria-Bekämpfungsmaßnahmen[1]) kommen in Betracht: Belehrungen mittels Wort und Schrift durch Aerzte und Erzieher, Zeitungen sowie durch allgemeinverständliche Flugblätter in allen Sprachen, systematische Ermittelungen und konsequente Chininbehandlung, zunächst in allen Schulen und Wohltätigkeitsanstalten etc.; ferner in den Häusern, eventuell auch in Polikliniken, die teils zu Malariastationen

1) Dr. Masterman [Lecture on sanitation of Jerusalem (Pal. explor. fund. 7. I. 1905)] hatte im Jahre 1905 schon folgende Bekämpfungsmaßnahmen vorgeschlagen: "1) To close the wells; 2) to use pump instead of buckets; 3) the systematic use of quinine troughout the city".

einzurichten wären; ferner Mückenschutz- und Vernichtungsmaßnahmen, soweit durchführbar.

17) Die Malariabekämpfung wird sich in Jerusalem, woselbst so viele verschiedene nationale und religiöse Interessen vertreten sind, sehr schwierig gestalten. Ein **Dauererfolg kann nur von einem planmäßigen gemeinsamen Vorgehen aller ärztlichen, nationalen und konfessionellen Gruppen erwartet werden.**

18) Mit der Malariabekämpfung muß auch zugleich eine Besserung der allgemein-hygienischen Zustände in Jerusalem erstrebt werden, deren ideales Endziel Wasserleitung und Kanalisation sind.

19) Zur Vereinigung aller Interessen zwecks Seuchenbekämpfung und Assanierung Jerusalems ist eine hygienische Sachverständigenzentrale notwendig, wie sie in anderen Städten die hygienischen Untersuchungsanstalten bilden.

20) Die Verbindung einer solchen Untersuchungsstation mit den Stadtinteressen würde am besten durch Anstellung eines eingeborenen Stadthygienikers mit weitesten Vollmachten hergestellt.

X. Schlußbetrachtung.

Unser Bericht zeigt, daß eine Assanierung Jerusalems möglich, wenn auch recht schwierig ist. Da Jerusalem gewissermaßen ein Konglomerat von Territorien darstellt, an denen die verschiedensten Nationen und Konfessionen interessiert sind, so kann man sich nur von einer Seuchen-, insbesondere Malariabekämpfung dauernden Erfolg versprechen, die auf großzügiger internationaler und interkonfessioneller Basis beruht. Die Assanierungsarbeiten müssen ja in allen Teilen Jerusalems vorgenommen werden, in denen jeweils nur eine Partei Machtbefugnisse hat und die Arbeiten unterstützen müßte.

Diese Ueberzeugung gewann ich schon bald nach Beginn unserer Ermittelungsarbeiten und brachte sie auch schon Mitte September und später in Berichten an das Expeditionskomitee in Berlin zum Ausdruck. Daraufhin kam alsdann im November das Komiteemitglied Herr Geheimrat Pannwitz nach Jerusalem; er brachte die beantragte, bisher fehlende, vollständige bakteriologische Ausrüstung mit. Während der 10-tägigen Anwesenheit von Herrn Geheimrat Pannwitz wurden die bereits begonnenen Verhandlungen mit den Aerzten, der einheimischen Regierung, den fremden Konsuln und den religiösen Vertretern fortgesetzt und zu einem Abschlusse gebracht: Die Genannten waren mit uns in dem Plane einig, die Assanierung durch einmütiges Zusammenarbeiten aller Interessenten in Jerusalem zu versuchen. Das Resultat dieser Verhandlungen wurde am 22. Nov. 1912 in einer Denkschrift niedergelegt, die Sr. Exz. dem Gouverneur von Palästina am 2. Dez. vom deutschen Generalkonsul und dem Berichterstatter überreicht, und von der auch den anderen Konsuln Kenntnis gegeben wurde.

Die Schlußsätze der Denkschrift an die Regierung waren folgende:

„1. Eine Assanierung Jerusalems ist nur durch einmütiges Zusammenwirken aller in Jerusalem vertretenen Nationen und Konfessionen, insbesondere der Aerzte, mit der einheimischen Regierung möglich.

2. Zur Vereinigung aller Interessen ist das Vorhandensein einer internationalen hygienisch-wissenschaftlichen Zentralstelle notwendig.

3. Die von Prof. Dr. Mühlens gegründete bakteriologische Untersuchungsstation wird mit der von amerikanischer Seite durch Dr. Brünn eingerichteten hinfort zusammenarbeiten.

4. Die Untersuchungsstation wird zunächst in einem inmitten der meisten Hospitäler gelegenen, zu diesem Zwecke gemieteten Hause eingerichtet und nach Maßgabe der vorhandenen, freiwillig gespendeten Mittel derartig erweitert, daß sie allen Behörden und Aerzten der türkischen und der anderen Regierungen auf alle hygienischen Fragen wissenschaftliche Auskunft erteilen kann.

5. Mit der rein wissenschaftlichen ermittelnden Tätigkeit soll eine praktische, die der Seuchen-, insbesondere Malariabekämpfung dient, verbunden werden. Zur praktischen Mitarbeit in diesem Sinne haben sich die meisten Aerzte einverstanden erklärt.

6. Als eines der nächsten Ziele ist die Einrichtung einer Abteilung zur Behandlung der Tollwut in Aussicht genommen.

7. Später soll eine Abteilung für Nahrungsmittel- und Wasseruntersuchungen etc. sowie für Heilserumgewinnung eingerichtet werden.

8. Die Station soll der türkischen Regierung in allen hygienischen Fragen, z. B. bei Seuchenausbruch in Jerusalem oder sonstwo in Palästina, jederzeit zur Verfügung stehen.

9. Die Mittel zur Unterhaltung werden durch freiwillige Beiträge der in Jerusalem vertretenen Nationen und Konfessionen gesammelt."

Am 16. Jan. 1913 wurden die Jerusalemer Aerzte zu einer Konferenz in unser Laboratorium eingeladen; fast alle (im ganzen 29) waren erschienen. In einem Vortrage entwickelte ich unser Programm, verlas die Schlußsätze des Memorandums und machte auch Mitteilungen über die mit Herrn Dr. Brünn vereinbarte Arbeitsteilung.

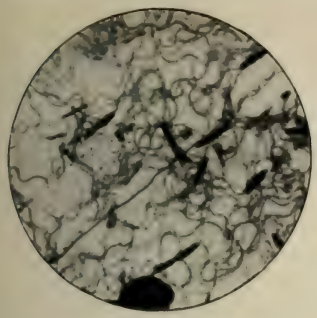
Als wichtiges Ergebnis unserer Expedition haben wir nunmehr auch einen **Abschluß der vorbereitenden Tätigkeit zur Assanierung der Stadt,** die gewissermaßen der geschichtliche Mittelpunkt für die 3 großen Konfessionen bildet. Die Grundsteine zu einem modernen „Gesundheitsamt", von dem aus die wissenschaftliche Leitung einer großzügigen Seuchenermittelung und -Bekämpfung in Jerusalem und auch in anderen Teilen Palästinas ausgehen könnte, sind gelegt[1]).

Es gilt nur, in einmütigem Zusammenarbeiten das Werk planmäßig weiter auszuarbeiten. Nur die Einigkeit macht stark. Jerusalem kann nicht in einem Jahre assaniert werden. Ein Stein muß nach dem anderen bei dem Assanierungswerke zusammengetragen und dem Gebäude fest eingefügt werden. Dabei gibt es noch viele Schwierigkeiten zu überwinden. Aber mehr als irgendwo in der Welt muß in Jerusalem die Parole Pasteurs gelten: „En fait de vérités à répandre, de douleurs à soulager, de misères à éteindre, le devoir ne cesse que là où le pouvoir manque."

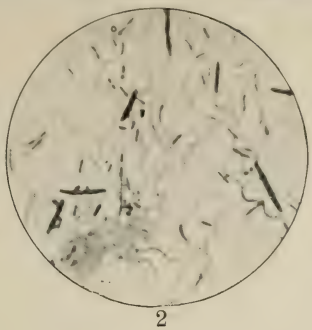
Wer für Jerusalem und die dort lebenden Volksstämme Gutes tun will, der helfe auch die Hygiene fördern, der unterstütze alle Bestrebungen, die darauf hinzielen, die Bedingungen für die Weiterverbreitung von Volksseuchen zu beseitigen und die Krankheiten selbst unter der

---

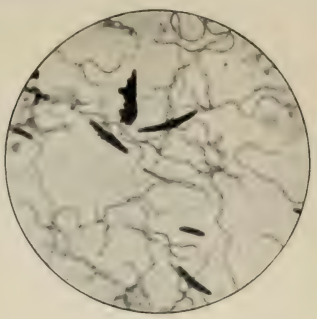
1) Von Herrn Dr. Masterman (Jerusalem), der mir frühere Berichte zur Kenntnis gab, weiß ich, daß er schon vor vielen Jahren bei der englischen Regierung eine ähnliche Seuchenbekämpfung angeregt hatte, wie sie jetzt durchgeführt werden soll. — Vor kurzem teilte mir ferner Herr Dr. Beham (Charkow) mit, daß er auch schon vor mehreren Jahren fast dieselben Ideen gehabt, die wir jetzt in die Tat umgesetzt haben, nämlich in Palästina ein mikrobiologisches Institut zu gründen (publ. in: Jüd. mediz. Stimme. [Russ.] 1910. Heft 1. p. 65). — Auch von deutsch-jüdischer Seite aus (Exz. Ehrlich, Geheimrat v. Wassermann) ist vor einigen Jahren schon einmal die Gründung eines hygienischen Instituts für Palästina ins Auge gefaßt worden. Die Notwendigkeit eines solchen war also schon lange von den verschiedensten Seiten erkannt.



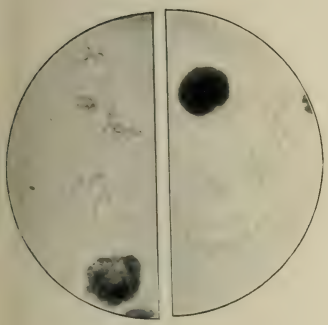
1



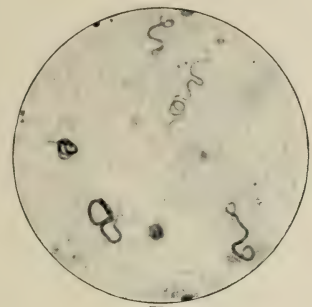
2



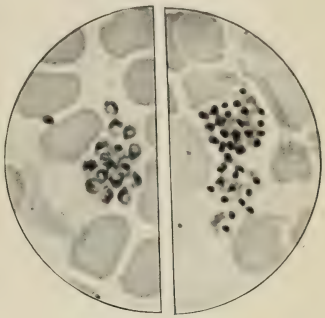
3



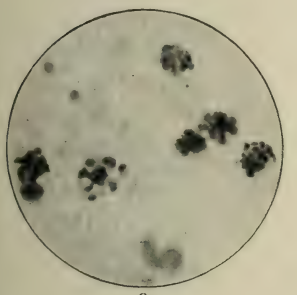
4 5



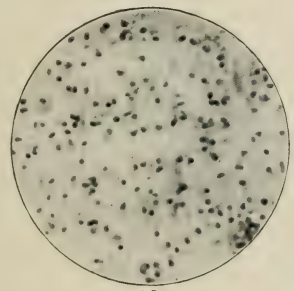
6



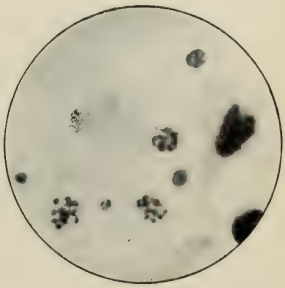
7 8



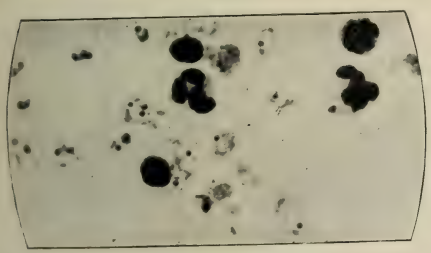
9



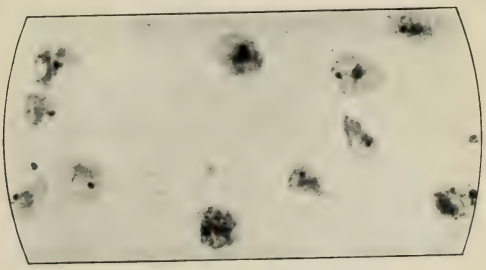
10



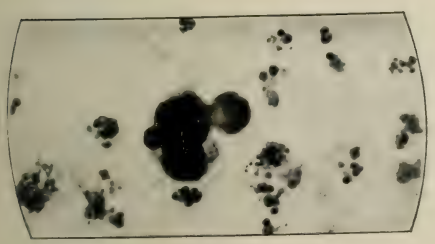
11



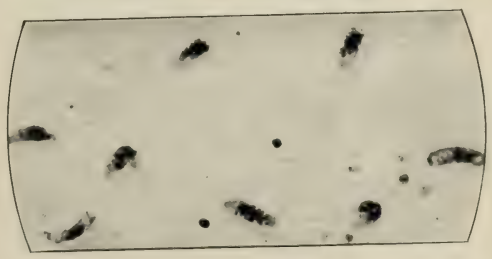
12



13



14



15

Mühlens phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS.

Fig. 1. Alte, sog. „Flaschenzisterne“ unter einem Türeingang, Tempeler Kolonie „Rephaim“.

Fig. 2. Alte, sog. „Grabeszisterne“ in einem Garten, Tempeler Kolonie „Rephaim“.

Fig. 3. Dachwasserzisterne, Tempeler Kolonie „Rephaim“.

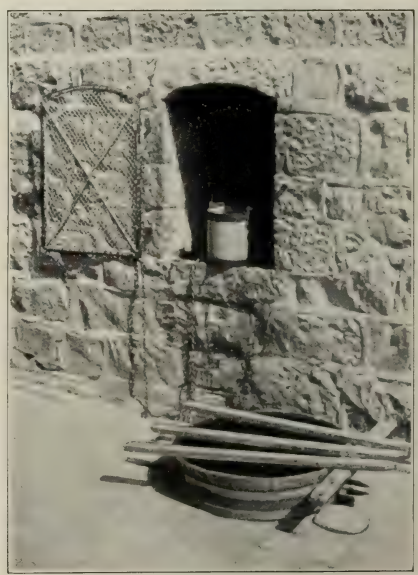


Fig. 4. Dachwasserzisterne unter einem Haus, „Rephaim“.

Mühlens phot.

Fig. 5. Wasserschöpferin am Jakobsbrunnen, amerik. Verlag phot.

Fig. 6. Alte Zisterne in einem Araberhof.

UNIVERSITY OF ILLINOIS

Fig. 7. Neue moderne Zisterne im Garten der Kaiserin Auguste Viktoria-Stiftung, Oelberg.

Fig. 8. Alte Zisterne am Oelberg-Abhang.

Mühlens phot.

Fig. 9. Sehr große alte Zisterne mit mannshohem Eingang (vorn) in Hebron.

Fig. 10. Alte Zisterne in Hebron; Wasserschöpfer, einen Eimer Wasser austrinkend.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

UNIVERSITY OF ILLINOIS

UNIVERSITY OF ILLINOIS

Fig. 11. Große Zisterne auf dem Tempelplatz, Omar-Moschée.

Fig. 12. Wasserentnahme aus einer Zisterne auf dem Tempelplatz.

Mühlens phot.

Fig. 13. Einer der „Salomonischen Teiche". Nach Photogr. des amerikan. Verlags, Jerusalem.

Fig. 14. Offene Wasserstelle in Hebron. Wasserträger mit gefüllten Ziegenfellen. Amerikan. Verlag phot.

THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

UNIVERSITY OF ILLINOIS.

Fig. 15. Blutentnahme in einem Araberdorf.

Fig. 16. Blutentnahme auf offener Straße im Araberviertel, Jerusalem.

Mühlens phot.

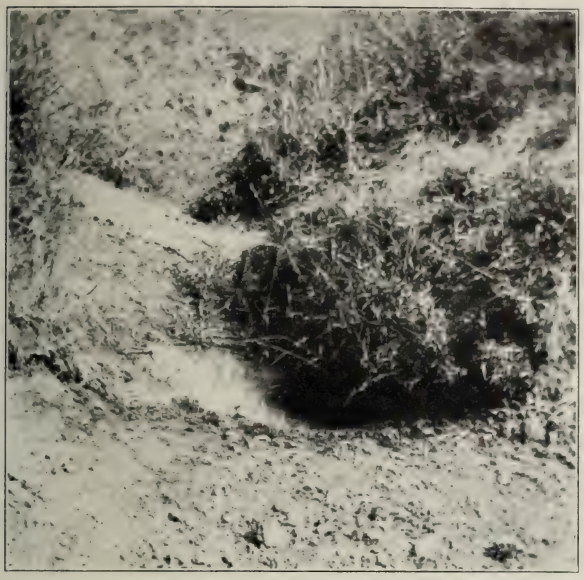


Fig. 17. Anopheles-Brutplatz bei Sarona.

Fig. 18. Assanierungsarbeiten in Sarona: Zuwerfen von Sümpfen.

THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Fig. 19. Verteilung von flüssigem Chinin in einer Kleinkinderschule, Talitha Kumi.

Fig. 20. Verteilung von Schokoladenchinin an Eingeborenenkinder in der Muristanschul

Mühlens phot.

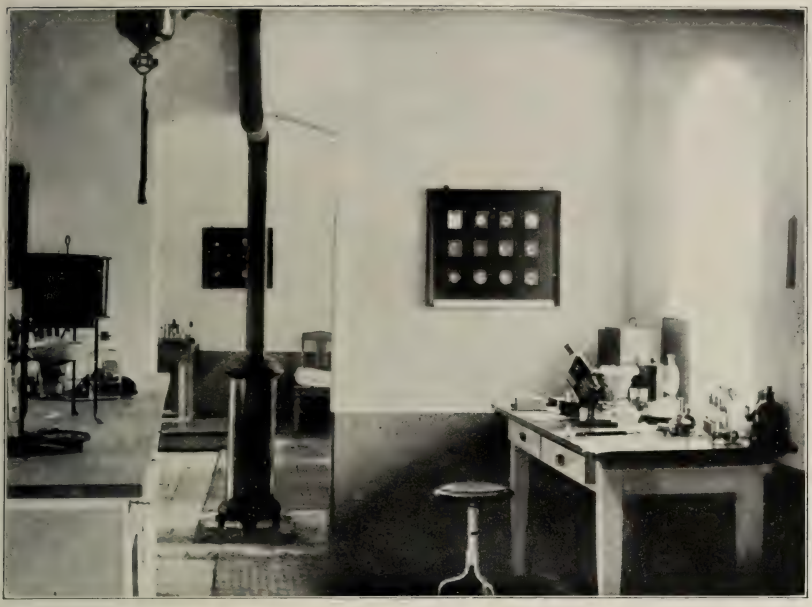


Fig. 21. Blick in unsere Laboratoriumsräume. Schmidt, Jerusalem, phot.

Fig. 22. Das Institutsgebäude an der Jaffastraße, Dr. Huntemüller phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

UNIVERSITY OF ILLINOIS

Bevölkerung auszurotten. Die zu diesem Zweck für Jerusalem erforderlichen Mittel sind sehr groß. Hier bietet sich ein weites Feld der Betätigung für die mit irdischen Gütern reich Gesegneten.

Möchte so auch das in Jerusalem zu dem Zwecke der Seuchenermittlung und -Bekämpfung, sowie der Erstrebung einer Besserung der allgemein-hygienischen Verhältnisse aus freiwilligen Spenden hochherziger Geber gegründete Institut, das, über allen konfessionellen und politischen Gegensätzen stehend, die Fahne der Wissenschaft führt, allseitige Unterstützung finden. Nur dann kann es sich zu einem Kulturwerk ersten Ranges ausbilden zum Wohle der armen leidenden Menschheit. Damit würde an der für unsere Religionen heiligen Stätte ein ehernes Denkmal der Wissenschaft errichtet sein für alle Zeiten.

Erklärung zu Tafel I.

Fig. 1. Ausstrich von Noma bei Kind: Spirochäten und „fusiforme Bacillen". 1000-fach vergrößert.
Fig. 2. Wie vorher.
Fig. 3. Ausstrich von Stomatitis ulcerosa bei Kind (beginnende Noma?) 1000-fach
Fig. 4—6. Dicke Tropfenpräparate von einem Recurrensfall in Bethlehem. Fig. 4 750-fach, Fig. 5 und 6 1000-fach.
Fig. 7 u. 8. Teilungsformen im Tertiana-Ausstrich, 1000-fach.
Fig. 9. Tropfenpräparat von Malaria quartana, 1000-fach.
Fig. 10. Tropfenpräparat von Malaria tropica, 1000-fach.
Fig. 11. Tropfenpräparat von Malaria quartana, 750-fach.
Fig. 12. Tropfenpräparat von Malaria tertiana, 750-fach.
Fig. 13. Tropfenpräparat von Malaria tertiana, 750-fach. Randpartieen des Tropfens; infizierte Blutkörperchen erhalten, mit Schüffner-Tüpfelung.
Fig. 14. Tropfenpräparat von Malaria tertiana, 1000-fach.
Fig. 15. Tropfenpräparat von Malaria tropica, 750-fach, viele Halbmonde.

Nachdruck verboten.

Die Leukocyten des Meerschweinchens und des Kaninchens in Kontakt mit den Flagellatenformen der Leishmania Donovani in vitro und im Körper der Tiere.

[Kgl. Institut für medizinische Klinik an der Kgl. Universität zu Rom (Prof. Guido Baccelli). Sektion für tropische Krankheiten, geleitet von Prof. U. Gabbi.]

Von Dr. **Francesco Scordo,** Assistenten und Privatdozenten.

Mit 1 Tafel.

Es ist mir von besonderem Interesse erschienen, sowohl in vitro als auch im Körper der Tiere die Wirkung der Leukocyten auf die Flagellatenformen der Leishmania Donovani zu studieren.

Zu den Untersuchungen in vitro habe ich die Leukocyten aus dem Peritoneum des Meerschweinchens und aus der Pleura des Kaninchens erhalten, indem ich mich des gebräuchlichen Mittels, des Aleuronats, bediente. Zu dem Zwecke habe ich 9 Stunden vorher in die Peritonealhöhle des Meerschweinchens und in die Pleurahöhle des Kaninchens eine kleine Quantität Aleuronat, welches in 8—10 ccm sterilisierter physiologischer Lösung aufgeschwemmt war, injiziert. Die Injektion geschah gegen Mitternacht, und am folgenden Morgen gegen 9 Uhr wurden unter

den sorgfältigsten aseptischen Vorkehrungen die Leukocyten aus dem Peritoneum des Tieres mittels einer feinen, durch die Flamme gezogenen Pipette extrahiert.

Ein erster Versuch wurde in der Weise ausgeführt, daß mittels einer Platinschleife direkt aus dem Peritoneum oder aus der Pleura des Tieres, unmittelbar nachdem dasselbe getötet war, Leukocyten entnommen und mit einer kleinen Quantität einer reichen und lebenskräftigen Kultur von Leishmania in Kontakt gebracht und im hängenden Tropfen unter dem Mikroskop beobachtet wurden. Auf diese Weise wurden 3—4 Präparate zu gleichzeitiger Beobachtung hergestellt. Im ersten Augenblicke wurde folgendes wahrgenommen.

Die sehr beweglichen Leishmanien eilten in dem mikroskopischen Felde hin und her. Indem bei dieser beständigen Bewegung einige derselben in die Nähe der Leukocyten kamen, traten sie in nähere Beziehung zu diesen. Sie schlugen sie stark mit der Geißel, und bei dieser Tätigkeit wurde ihre Bewegung noch lebhafter.

In der Folge geschah es, daß die Flagellaten entweder sich schnell nach einigen Sekunden von dem Leukocyten entfernten oder daß sie allmählich ihre Bewegung verloren und sich an den Leukocyten anlehnten und langsam in diesen eindrangen.

Was nun manchmal schwer festzustellen war, war dieses, ob es sich ausschließlich um eine phagocytäre Wirksamkeit des Leukocyten handelte oder ob nicht der Flagellate durch ein tätiges Eindringen mitwirkte. Oft war in deutlicher Weise wahrzunehmen, daß die Leukocyten, nachdem sie mit den Leishmanien in Kontakt gekommen waren, langsam ihre Form veränderten und meistens das Aussehen eines Muffs oder einer Kapuze rings um das Protozoon annahmen, um dann wiederum die kugelförmige Gestalt anzunehmen, sobald die phagocytäre Tätigkeit beendet war. Bei der Untersuchung durch unmittelbare Beobachtung ist es nicht möglich, die Veränderungen der so eingehüllten Leishmanien weiterzuverfolgen. Wenn die Leishmanien, die mit dem Leukocyten in Kontakt gekommen waren, zu zweien oder mehreren sich vorfanden, so war die Einhüllung sehr schwierig und ein größerer oder kleinerer Teil der Parasiten blieb außerhalb. Die bisher wahrgenommenen Fakta entwickelten sich gewöhnlich ungefähr innerhalb der ersten halben Stunde der Beobachtung. Wenn man den Tropfen nach einen paar Stunden oder mehr beobachtete, während die Verdunstung desselben durch Einschluß in Vasellin verhindert war, so nahm man wahr, daß einige dieser Leukocyten von mehreren und zuweilen von vielen Leishmanien, die ihre Bewegung verloren hatten, geradezu umringt waren, so daß sich hieraus oft gleichsam die Gestaltung einer Perle ergab. Uebrigens ist oft von den ersten Augenblicken an wahrzunehmen, daß, während einige Einkernige gleichsam eine Anziehung auf die Leishmanien ausüben, welche, wenn sie zahlreich sind, sie schlagen und ihnen eine starke Bewegung beibringen, andere Leukocyten, die nach ihren morphologischen Merkmalen jenen gleich sind, keine Wirkung auf die Parasiten auszuüben scheinen. Mehrere Präparate mit dem hängenden Tropfen wurden unmittelbar nach ihrer Herstellung in den Thermostaten gebracht, worin sie teils bei 24°, teils bei 37° gehalten wurden; sodann wurden sie nach verschiedenem Zeitverlauf beobachtet. Die Fakta, welche wahrgenommen wurden, boten keine wesentlichen Abweichungen von denjenigen, die sich schon bei der umgebenden Temperatur ergeben hatten.

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Verlag von Gustav Fischer in Jena.
P. Weise, Lith., Jena.

Auch hier wurde wahrgenommen, daß, während einige Leukocyten von Leishmanien, die sehr bald unbeweglich geworden waren, sich umgeben befanden, andere, sowohl einkernige, als auch mehrkernige, völlig frei waren, woraus sich ergibt, daß nicht alle Leukocyten, wenn sie nur dieselbe Form haben, in demselben Grade die phagocytäre Wirkung den Leishmanien gegenüber ausüben.

Einige dieser Präparate ließ man in dünner Schicht trocken werden, um sie hernach zu fixieren und zu färben. Auf diese Weise konnte man die Veränderungen beobachten, denen die Leishmanien entgegengingen, welche gänzlich oder zum Teil von den Leukocyten eingehüllt waren. Sie verlieren zunächst die Geißel, während ihr Protoplasma trübe wird, und nehmen allmählich eine rundliche Form an. In einer folgenden Phase verschwindet der Zellkern und der Blepharoplast; an ihre Stelle treten Chromatinkörnchen, welche im Protoplasma zerstreut und in mannigfaltiger Weise gruppiert sind. Zuletzt verlieren die Parasiten ihren Umriß und werden zu einer granulösen und kaum erkennbaren Masse im Körper der Leukocyten. Zuweilen ist es geradezu erstaunlich, in wie kurzer Zeit sich dieses alles vollzieht.

Aber diese Zerstörungsprozesse werden nicht in allen Leukocyten in derselben Zeit vollendet. Neben den Leukocyten, welche Leishmanien in der Form von Detriten erhalten, sind solche wahrzunehmen, in denen die oben erwähnten Parasiten kaum die ersten Zeichen einer Veränderung aufweisen. Dies beruht außer auf dem Unterschiede in der Zeit, in der die Einhüllung seitens des Leukocyten vor sich gegangen ist, auch auf dem Faktum, daß einige dieser letzteren, da sie unserer Ansicht nach die anreizende Tätigkeit des Parasiten nicht gut ertragen, zum Teil oder gänzlich ihre Widerstandsfähigkeit verlieren und so in die Lage kommen, ihre Aufgabe unvollständig zu erfüllen.

Eine andere Reihe von Versuchen bestand darin, daß unmittelbar in Röhrchen mit Leishmania-Kultur Leukocyten gebracht wurden, sobald diese aus der Peritonealhöhle oder der Pleurahöhle der Tiere entnommen waren, und daß man die Röhrchen bei 24° und bei 37° in den Thermostaten stellte, um in dem einen Falle die Leukocyten und in dem anderen die Leishmanien ihrem Temperaturoptimum auszusetzen. Aus der Kulturflüssigkeit wurde sodann nach verschiedenem Zeitverlauf mittels Platinschlingen Material entnommen, welches man teils zur unmittelbaren Beobachtung im hängenden Tropfen, teils zur Gewinnung von Strichkulturen auf Platten verwandte, die man hernach fixierte und färbte. Der Zeitverlauf zur Entnahme des Untersuchungsmaterials betrug anfangs $^1/_4$ Stunde, dann $^1/_2$ Stunde, hierauf 1 Stunde und dann verschiedene Stunden Zwischenzeit bis zu 24 Stunden. Ich habe die Beobachtung nicht über 24 Stunden ausgedehnt, auch weil nach den ersten Stunden die Erscheinungen keine beachtenswerten Abweichungen mehr boten. Zur Beobachtung wurden diejenigen Kulturröhrchen gewählt, in denen die Leishmanien sehr gut entwickelt waren und sich zahlreich vorfanden. Die Resultate dieser Versuche sind fast dieselben wie die schon angegebenen. Auf der am Schluß der Abhandlung beigefügten Tafel sind einige Beispiele veranschaulicht, welche interessant und an sich klar sind.

Die Fig. 1 und 2 sind nach Präparaten aufgenommen, die 1 Stunde nach der Einführung der Protozoen in die Kulturröhrchen hergestellt wurden; Fig. 3 nach 3 Stunden, Fig. 4 nach $4^1/_2$ Stunden, die Fig. 5, 6, 7, 8 nach 5 Stunden und Fig. 9 nach 16 Stunden.

Diese Figuren brauchen, wie schon erwähnt, nicht erläutert zu werden; wir wollen nur das Faktum hervorheben, welches hier leicht erkennbar ist, daß die Veränderungen der Parasiten nicht proportional zu der Zeit der Entnahme des Untersuchungsmaterials sind. Ueber die Deutung dieser Tatsache haben wir uns schon geäußert. Eine andere beachtenswerte Eigentümlichkeit ist die Veränderung der Leukocyten, sei es infolge des Umstandes, daß sie sich in einer anormalen Umgebung befinden, sei es, wie wir es besser erklären wollen, infolge der wahrscheinlichen Einwirkung des Parasiten auf denselben.

Zuletzt fand eine dritte Reihe von Versuchen statt, die sich von den vorhergehenden nur dadurch unterschieden, daß man die Leukocyten, ehe sie mit den Leishmanien in den Kulturröhrchen in Kontakt gebracht wurden, wiederholten Waschungen in steriler physiologischer Lösung unterwarf. Hier vollzieht sich die Erscheinung der Phagocytose sehr langsam und unvollständig. Die Leukocyten sind offenbar durch die vorgenommene Behandlung und durch die Abwechselungen der Temperatur, denen sie ausgesetzt worden sind, geschädigt. Das Faktum, daß in dieser Versuchsreihe, ebenso wie in der vorhergehenden, manche Leishmanien innerhalb der Leukocyten sehr gut erhalten sind, auch in den Präparaten, die nach 24 Stunden hergestellt wurden, beweist gerade das, was wir schon hervorgehoben haben, daß nämlich die Leukocyten, nachdem sie aus verschiedenen Ursachen in ihrer Widerstandsfähigkeit geschwächt sind, nicht ihre Aufgabe vollständig zu erfüllen vermögen.

Die verschiedenen Behandlungsweisen, denen die Leukocyten bei dieser Art von Versuchen unterworfen werden, sind insgesamt Ursachen zur Schwächung der Lebensfähigkeit so zarter Zellelemente. Hierfür haben wir ein gewisses Gegengewicht in den Versuchen, die nun folgen.

Ich bin nämlich dazu übergegangen, das Phänomen im Peritoneum des Meerschweinchens selbst zu beobachten, und habe zu dem Zweck in dasselbe die Kulturflüssigkeit des Nährsubstrats von Nicolle injiziert, welche reich an Leishmanien war, die sehr lebhafte Bewegungen zeigten. In den Präparaten zur unmittelbaren Beobachtung, welche sofort nach der Injektion ungefähr eines Kubikzentimeters der Kultur hergestellt wurden, ist wahrzunehmen, daß schon viele Leishmanien von den Leukocyten aufgenommen sind, während sich andere nahe bei diesen befinden und noch andere nur zum Teil in die Leukocyten eingedrungen sind. Im ganzen ist das wahrzunehmen, was wir schon in vitro beobachtet haben, mit dem einzigen Unterschiede, daß hier das Phänomen der Einhüllung und der Zerstörung der Leishmanien seitens der Leukocyten sich schneller abwickelt, und dies ist aus dem Faktum zu erklären, daß hier die Leukocyten in ihrem normalen Kampfeselement tätig waren.

Wenn sofort Strichkulturen angelegt und gefärbt werden, ist vor allem wahrzunehmen, daß die freien Leishmanien selten sind und daß diejenigen, die schon eingehüllt sind oder gerade eingehüllt werden, nicht mehr die Geißel haben. Es ist im allgemeinen der Zellkern und der Blepharoplast zu erkennen.

Außerdem ist wahrzunehmen, daß die eingehüllten Leishmanien die runde Form annehmen, während sie sich verkleinern. Nach etwa $^1/_4$ Stunde oder noch besser nach $^1/_2$ Stunde findet man, daß fast alle Leishmanien eingehüllt sind; die freien Leishmanien sind äußerst selten, und diese weisen Anzeichen der Degeneration auf. Die eingehüllten Leishmanien behalten zum kleinen Teil noch ihre Elemente und ihre Morphologie, aber zum großen Teil haben sie ihren Umriß und einige ihrer Elemente

verloren. Oft sind in den großen Einkernigen Körnchen und kleine Schollen von Chromatin wahrzunehmen, offenbare Reste der Zellkerne der Parasiten, welche durch Auflösung verschwunden sind.

Nach ungefähr 1 Stunde sind die Phänomene der Zerstörung der Leishmanien häufiger zu beobachten, während selten irgendein gut erhaltener Parasit mit rundlicher oder ovaler Form, mit seinem eigentlichen Umriß und mit seinen Elementen in dem Körper der Leukocyten wahrgenommen wird. Nach 2 Stunden treten die soeben erwähnten Erscheinungen noch deutlicher hervor, weswegen es nicht nötig ist, noch neue Strichkulturen anzulegen.

Es war mir möglich, dieses bei zahlreichen Präparaten zu beobachten, welche beständig gleiche Resultate gaben.

Während also in vitro auch nach 24 Stunden noch Leishmanien in dem Körper der Leukocyten beobachtet werden konnten, war dieses Faktum nach 2 Stunden nicht mehr in den Leukocyten wahrzunehmen, die aus dem Peritoneum des Meerschweinchens entnommen waren, wenngleich bei einigen die Fülle der Chromatinkörnchen und der Detrite der Parasiten keinen Zweifel über die von jenen ausgeübte phagocytäre Tätigkeit übrig ließ. Es ist also zu schließen, daß die Reizbarkeit der Leukocyten und ihre Fähigkeit, sich zusammenzuziehen bei den vorhergehenden Untersuchungen geschwächt waren, wodurch sich ihre Anziehungsfähigkeit und ihre Schnelligkeit in der phagocytären Tätigkeit verminderte. Andererseits muß man logischerweise annehmen, daß die Funktionen des weißen Blutkörperchens, wenn dieses aus seiner natürlichen Umgebung entfernt ist, geschwächt und sicherlich auch zum Teil aufgehoben sind.

Im Verlaufe dieser Untersuchungen bin ich zur Kenntnis der Versuche gekommen, die über denselben Gegenstand von Leishman in vitro und von Delanoe im Körper (Peritoneum) der Ratten angestellt worden sind. Es freut mich, zu sehen, daß meine Untersuchungen vollständig mit dem übereinstimmen, was die beiden erwähnten Autoren in kurzen Berichten dargelegt haben [1]).

Gleichfalls gelangte, nachdem dieser Bericht fertiggestellt war, die Arbeit von Visentini [2]) in meine Hände, welche in dem „Bulletin de la Société de Pathologie exotique“ veröffentlicht ist, wie auch die Notiz, welche Dr. Bayon dem Kongreß für exotische Pathologie, der Ende Juli in London gehalten worden ist, mitgeteilt hat über Präparate von Phagocytismus der Leishmanien durch Wirkung der Einkernigen.

Erfreut, daß der von mir in Betracht gezogene Gegenstand nicht des Interesses entbehrt, bringe auch ich meinen bescheidenen Beitrag zu demselben dar.

---

1) Leishman, William B., Kala-azar and tropical sore. (Quarterly Journ. of Med. Vol. 5. 1911. No. 17. Oxford Critical Review.)

2) Visentini, A., Mécanisme de l'immunité naturelle du rat et du cobaye à l'égard des cultures de Leishmania infantum. (Bull. Soc. de Pathol. exot. T. 5. 1912. No. 16. Séance du 12 juin.)

Nachdruck verboten.

Tracheophilus sisowi n. g. n. sp.

Ein Beitrag zur Systematik der Gattung Typhlocoelum Stossich und der verwandten Formen.

[Aus dem Zoologischen Museum der Universität zu Königsberg i. Pr.]

Von **K. I. Skrjabin,** Veterinärarzt.

Mit 1 Tafel.

Im Jahre 1902 stellte Stossich in seiner Arbeit über Monostomiden (1) die neue Gattung Typhlocoelum mit folgender Diagnose auf: „Braccia intestinali fornite lungo la faccia mediana di sacchi ciechi semplici o divisi. Testicoli fortemente lobati, contigui, il posteriore adagioto sull' arco intestinale, l'anteriore a ridesso del braccia intestinale sinistro. Ovario semplice, sferico, situato sopra il testicolo posteriore, alla destra del testicolo anteriore. Vitellogeni laterali, costituiti da acini piccoli, numerosissimi. Tipo: Typhlocoelum flavum Mehlis."

Außer T. flavum Mehlis 1831 rechnet Stossich noch T. cucumerinum Rudolphi 1809 als sichere Art in seine Gattung, während als unsichere Arten („forme dubbie") folgende bezeichnet werden: Monostomum sp. Magalhães (aus den Bronchien von Anas boschas brasiliana), Monostomum sarcidiornicola Megnin (aus den Tracheen von Sarcidiornis melanota von Madagaskar).

Dr. Kossack kam in seiner neuesten (1911) Arbeit über Monostomiden (2) nach sorgfältiger Untersuchung der beiden, laut Stossich zu Typhlocoelum gehörenden Arten T. flavum und T. cucumerinum zu der Erkenntnis, daß sie beide zu vereinigen sind. Dadurch wird nach Kossack T. cucumerinum zum Typus der Gattung. Bei der Charakterisierung der Gattung Typhlocelum Stossich legt Kossack das Hauptgewicht 1) auf die Anwesenheit von Blindsäcken am Innenrande der Darmschenkel und 2) auf die sehr stark gelappten Hoden. Als Species inquirendae zählt Kossack zur Gattung Typhlocoelum die beiden „forme dubbie" von Stossich (Typhlocoelum sp. Magalhães und T. sarcidiornicola Megnin) und fügt dazu mit einem gewissen Vorbehalt Monostomum cymbium Diesing 1850 aus dem Oesophagus von Himantopus wilsonii (Brasilien) unter der Bezeichnung (Typhlocoelum) cymbium Dies.

Diese letzte Art, die von Monticelli (3) ausführlich untersucht worden ist, unterscheidet sich von der Gattung Typhlocoelum durch die Abwesenheit der Blindsäcke am Darmkanal und durch die ganzrandigen Hoden. Durch seine anderen Merkmale (Körperform, Lage der Genitalöffnungen und Charakter der Dotterdrüsen) nähert sich die Art dagegen der Gattung.

Um die Differenz mit der Gattungsdiagnose zu verringern, nimmt Kossack an, daß Monticelli möglicherweise die Blindsäcke übersehen haben könnte, die von dem dichten Netz der Dotterstöcke überdeckt sind, wobei noch hinzukommt, daß das Monticellische Material nicht gut erhalten war.

Wie dem auch sei, so bleibt auch bei der Annahme der Richtigkeit der Kossackschen Vermutung ein Merkmal (die Ganzrandigkeit der Hoden) zurück, das die Art von der Gattung Typhlocoelum trennt.

Durch dasselbe Merkmal — die ganzrandigen Hoden — unterscheidet sich von der Gattung die Art (Typhlocoelum) sarcidiornicola Megnin, bei welcher, soweit sich nach der Kopie einer Kopie der ursprünglichen Zeichnung urteilen läßt (vgl. Fig. 4) typische Blindsäcke vorhanden sind.

Was die andere Art der Gattung, Typhlocoelum sp. Magalhães, betrifft, die kürzlich von Neumann (4) unter dem Namen Typhlocoelum obovale beschrieben wurde, so kann man sie nur mit großer Vorsicht in die Gattung bringen: von dieser Art wissen wir trotz der zweimaligen Beschreibung im Jahre 1888 und 1899 außer von der Anwesenheit der Blindsäcke nichts von dem Charakter und der Lage der Genitaldrüsen. Zur Beschreibung trägt auch die Zeichnung von Magalhães nicht bei, deren genaue Kopie aus seiner portugiesischen Arbeit ich hiermit beilege (Fig. 5). Neumann hat die Art zu Typhlocoelum wegen des Aufenthaltsortes und der Darmblindsäcke gezogen.

In einer Kollektion parasitischer Würmer aus Russisch-Turkestan, die ich während meines Aufenthaltes in Aulie-Ata im Syr-Darjagebiete zusammenbrachte, fand sich auch ein Exemplar einer Monostomum-Art aus den Tracheen einer am 7. Jan. 1909 erlegten Anas boschas, mit dem für Typhlocoelum charakteristischen Merkmale — Blindsäcke an der Innenseite der Darmschenkel — und dem abweichenden Merkmal — ganzrandigen Hoden. Durch diese zwei Merkmale erinnerte meine Art in hohem Grade an T. sarcidiornicola Megnin, die Lagerung der Geschlechtsdrüsen (bei meiner Art unmittelbar am Hinterrande des Darmbogens, bei der Megninschen Art in der Höhe der Grenze zwischen Mittel- und Hinterdrittel des Körpers) sprach aber für die Zugehörigkeit zu einer besonderen Art, wenngleich derselben Gattung.

Leider war das einzige Exemplar meiner Sammlung ein junges, noch nicht geschlechtsreifes Individuum, ohne Eier im Uterus, ohne wahrnehmbare Dotterstöcke (Fig. 3), so daß ich auf ihn zusammen mit T. sarcidiornicola eine neue Gattung nicht begründen konnte, obwohl eine Reihe Merkmale vorlagen. Der Zufall wollte es, daß ich während der Untersuchung meiner Art von meinem Kollegen, Veterinärarzt P. Sisow, aus Paris zur Determination mehrere Exemplare einer Trematodenart erhielt, die aus den Tracheen der Hausente (Anas boschas domestica) vom Pariser Markt (halles) stammten. Schon die oberflächliche Untersuchung ergab, daß die Art der Gattung Typhlocoelum außerordentlich nahe steht, da die Blindsäcke am Darm vorhanden waren, nach der Form seiner ganzrandigen Hoden und nach ihrer Lagerung unmittelbar am Hinterrande des Darmbogens erinnerte die Art sehr an meine Turkestaner Species Für ihre nahe Verwandtschaft sprach auch das Vorkommen in den Tracheen und der Wirt (Anas boschas), mit dem einzigen Unterschied, daß mein Turkestaner Stück aus einer wilden, die Pariser aus einer Hausente stammten.

Eine genaue vergleichende Untersuchung der Parasiten führte mich zu der Ueberzeugung, daß sie zu einer und derselben Art gehörten. Was die Gattung betrifft, so schien es mir zweckmäßig, diejenigen Arten, die sich durch konstante gemeinsame Merkmale unterscheiden von der Gattung Typhlocoelum Stossich — Ganzrandigkeit der Hoden — in eine besondere Gattung abzutrennen, die ich Tracheophilus nennen möchte. Für die Zweckmäßigkeit der Abtrennung spricht, daß wir augenblicklich zwei zweifellose Arten der Gattung haben, bei denen neben den ganzrandigen Hoden auch Darmblindsäcke vor-

kommen. Als den Typus der neuen Gattung wähle ich die Pariser Art, die ich dank der großen Anzahl von Exemplaren recht genau untersuchen konnte, und die zu Ehren des Sammlers den Namen Tracheophilus sisowi n. g. n. sp. tragen soll. Als zweite sichere Art dieser Gattung betrachte ich (Typlocoelum) sarcidiornicola Megnin. Sollte sich die Vermutung Kossacks bestätigen, daß Monostomum cymbium Diesing Darmblindsäcke besitzt, so müßte die Art wegen ihrer ganzrandigen Hoden auch in die Gattung Tracheophilus übergeführt werden und nicht in die Gattung Typhlocoelum Stossich.

Tracheophilus n. g.

Diagnose. Monostomiden von mittlerer Größe, mit flachem, an beiden Enden abgerundetem Körper. Mundöffnung subterminal. Darmkanal am Innenrande mit einfachen, nicht verästelten Blindsäcken versehen. Genitalöffnung vor dem Pharynx. Dottersäcke sehr stark entwickelt, bestehen aus kleinen Follikeln und liegen jederseits dorsal und ventral vom Darmschenkel. Geschlechtsdrüsen im hinteren Drittel des Körpers. Hoden und Keimstock stets ganzrandig und rundlich-oval. Uterus nimmt mit seinen Windungen das innere Körperfeld zwischen den Darmschenkeln ein. Parasiten der Luftwege von Wasservögeln. Typische Art:

1. Tracheophilus sisowi n. sp. 1913.

Parasit mit flachem oval-länglichen Körper, dessen Länge von 6—7,5—11,5 mm schwankt. Von den untersuchten Exemplaren erreichte nur eines die letztangegebene Größe (Fig. 1a), wobei der mit Eiern sackartig prall gefüllte Körper keine weiteren Einzelheiten erkennen ließ. Die Abbildung 2 und die Beschreibung sind von mir nach Exemplaren von mittlerer Größe angefertigt worden, deren Länge 7,56 und deren Breite 2,98 mm betrug. Die größte Körperbreite liegt in der Mitte, nach hinten und vorne verjüngt sich der Körper allmählich, und die Enden sind abgerundet. Bei einigen Exemplaren findet sich am vorderen Körperende ein zungenförmiger Vorsprung (Fig. 2). Das Vorderende ist etwas breiter als das Hinterende, wie das für die Gattung Typhlocoelum charakteristisch ist, nur erscheint hier dieses Merkmal nicht so scharf ausgeprägt.

Die Mundöffnung liegt subterminal und steht vom Vorderende 0,29 mm ab. Der Pharynx mißt im Mittel 0,29 mm in der Länge und 0,25 mm in der Breite. Er führt in den außerordentlich kurzen Oesophagus, der seinerseits in die besonders mächtigen Darmschenkel übergeht. Die Darmschenkel ziehen parallel den Körperseiten nach hinten und halten sich dabei in einiger Entfernung von dem Rande. Im hinteren Körperteile vereinigen sich die beiden Darmschenkel zum Darmbogen. Der Außenrand des Darmes ist völlig gleichmäßig und glatt, der Innenrand dagegen trägt auffallende Blindsäcke, die nach innen gerichtet sind, sich jedoch nicht gegenseitig berühren, sondern einen beträchtlichen Raum zwischen sich lassen. Im ganzen gehen jederseits 9—13 Blindsäcke ab. Die größte Entwicklung zeigen die Blindsäcke im mittleren Körperdrittel: im Gebiete des Darmbogens und der Darmgabelung fehlen sie dagegen völlig. Diese Fortsätze sind einfach, ohne Spur einer Gabelung, unterscheiden sich also von den leicht verästelten Blindsäcken der Gattung Typhlocoelum.

Die Genitaldrüsen liegen im hinteren Körperteil, zwischen den Darmschenkeln. Die Hoden sind von gleicher Größe. Der hintere Hoden

liegt median und berührt den Innenrand des Darmbogens, der andere Hoden liegt nach vorne lateral von ihm und wird vom hinteren durch Uteruswindungen und in der Mehrzahl der Fälle durch einen Darmblindsack getrennt. Die Hoden sind stets ganzrandig, von rundlich-ovaler Form und besitzen einen Durchmesser von 0,340 mm. Die Bursa cirri ist schwach entwickelt und geht im Gegensatz zur Gattung Typhlocoelum nicht über den Darm hinaus. Der Keimstock ist stets etwas größer als die Hoden, ganzrandig, rund und hat einen mittleren Durchmesser von 0,45 mm. Er liegt meistens in gleicher Höhe mit dem vorderen Hoden, von dem er durch Uteruswindungen getrennt ist, während zwischen ihm und den hinteren Hoden außer den Uteruswindungen noch die Schalendrüse liegt. Manchmal ist der Keimstock etwas mehr nach hinten verlagert. Meistens bilden diese drei Geschlechtsdrüsen ein gleichschenkliges Dreieck, das mit der Spitze nach hinten gerichtet ist. Die Schalendrüse liegt am Hinterrande des Keimstockes und wird von den Hoden durch die Uteruswindungen geschieden. Der Uterus füllt mit seinen Schlingen den ganzen Körperraum des Parasiten zwischen den Darmschenkeln aus und läßt im hinteren Teile nur einen kleinen Raum für die Genitaldrüsen frei. Die Darmwindungen sind besonders stark zusammengedrängt und unregelmäßig, und nur im vorderen Drittel bilden sie ziemlich regelmäßige Windungen, die senkrecht zur Körperlängsachse stehen. In der Höhe der Darmgabelung biegt der Uterus in rechtem Winkel nach vorn, kreuzt den Darm, verläuft ventral vom Pharynx und mündet etwas vor ihm neben der männlichen Geschlechtsöffnung. Der Uterus ist bei geschlechtsreifen Exemplaren mit ovalen Eiern gefüllt, deren Länge 0,122, deren Breite 0,063 mm beträgt. Die Dotterstöcke sind sehr stark entwickelt. Ihre Hauptstämme liegen dem Außenrande der Darmschenkel an. Die lateralen Follikel liegen zwischen dem Körperaußenrande und den Darmschenkeln, die inneren erreichen die Innengrenze der Darmblindsäcke. Die Dotterstöcke beginnen im Niveau des Pharynxvorderrandes und enden zwischen Darmbogen und Körperhinterende. Im hinteren Körperteile umgeben sie die hinter dem Darmbogen gelegene ovale Exkretionsblase, treten aber nicht zusammen. Die einzelnen Follikel sind zwar klein, liegen aber in Form eines dichten Netzwerkes.

Als Wirt des Parasiten müssen wir bis auf weiteres Anas boschas domestica (Paris) und Anas boschas L. (Russisch-Turkestan) ansehen. Aufenthaltsort sind die Tracheen.

2. **Tracheophilus sarcidiornicola** (Megnin) 1890.

Wie schon eingangs bemerkt, ist Typhlocoelum sarcidiornicola nach seinen anatomischen Merkmalen ein Vertreter der von mir aufgestellten Gattung Tracheophilus. Da mir Exemplare der Art nicht vorliegen, beschränke ich mich auf eine Zusammenfassung und Wiedergabe der in der Literatur vorhandenen Angaben.

Länge des Körpers 5—6 mm. Körperform elliptisch, das Vorderende breiter als das Hinterende. Mundöffnung groß, rund, subterminal, in der Mitte des runden Saugnapfes gelegen. Oesophagus ziemlich lang, die beiden Darmschenkel vereinigen sich nach hinten zu einem Darmbogen. Der Innenrand des Darmes mit kurzen großen ungeteilten Blindsäcken. Genitalöffnung auf dem Niveau der Darmgabelung. Hoden verhältnismäßig klein, von fast regelmäßig runder Gestalt, ganzrandig, schräg hintereinander gelegen, und zwar an der Grenze des zweiten und

letzten Körperdrittels in ziemlich beträchtlicher Entfernung vom Darmbogen. Der Uterus füllt mit seinen Schlingen den Körperraum zwischen den Darmschenkeln aus und reicht so weit nach hinten, als es die Genitaldrüsen erlauben. Die Dotterstöcke bestehen aus sehr kleinen Follikeln, die nach außen von den Darmschenkeln liegen und sich vom Vorderende des Körpers nach hinten ziehen. Sie vereinigen sich am Hinterende des Körpers. Exkretionsblase groß, zwischen Darmbogen und Dotterstöcken gelegen.

Lebt in den Tracheen von Sarcidiornis melanota (Madagaskar).

Ich füge hier eine Bestimmungstabelle der beiden zweifellosen Tracheophilus-Arten an:

I. Oesophagus lang, beide Hoden beträchtlich vom Darmbogen entfernt . . . Tracheophilus sarcidiornicola Megnin.

II. Oesophagus sehr kurz, hinterer Hoden unmittelbar dem Darmbogen anliegend . . . . . Tracheophilus sisowi n. sp.

Als Species inquirendae könnten zur Gattung Tracheophilus noch hinzugezählt werden:

3. (Tracheophilus) cymbium (Diesing) 1850.

Sollte sich die Vermutung Kossacks vom Vorhandensein von Blindsäcken bestätigen, so hätten wir in der Art einen typischen Vertreter der Gattung.

4. (Typhlocoelum?) obovale (Neumann) 1909.

Da der Autor der Art nichts über den Hauptunterschied zwischen Typhlocoelum und Tracheophilus — gelappte oder ganzrandige Hoden — sagt, können wir die Art mit demselben Recht sowohl in die eine wie in die andere Gattung stellen. Da der Entdecker der Art, Magalhães (vgl. 6, 7), sie ebenfalls in Enten fand (Anas boschas brasiliensis), wobei er zahlreiche Todesfälle bei den befallenen Tieren anführen kann, so möchte ich hier kurz die Unterschiede von T. sisowi anführen. Die Länge beträgt 12, die Breite 5 mm, die Körperränder sind leicht gezackt, die Mundöffnung befindet sich 0,45 mm vom Vorderende, das Maß der Eier beträgt: Länge 0,154, Breite 0,090 mm. Der Entdecker glaubte mit Vorbehalt die Art bei Monostomum (Typhlocoelum) flavum Mehlis unterzubringen, läßt aber die Frage offen.

Herrn Geheimrat Prof. Dr. M. Braun bin ich, wie immer, auch diesmal für freundliches Interesse und für wertvolle Hilfe zu großem Dank verpflichtet. Herr Dr. Dampf besorgte auch diesmal in alter Liebenswürdigkeit die Uebersetzung des russisch geschriebenen Manuskripts.

Königsberg i. Pr., Februar 1913.

Literatur.

1) Stossich, M., Il Monostomum mutabile Zed. e le sue forme affini. Trieste 1902. p. 30—34. Con 9 tav.
2) Kossack, Ueber Monostomiden. (Zool. Jahrb. Systematik. Bd. 31. 1911. Heft 4. Mit 3 Tafeln.)
3) Monticelli, Studii sui Trematodi endoparassiti Monostomum cymbium. Dies. Torino 1892.
4) Neumann, Parasites et maladies parasitaires des oiseaux domestiques. Paris 1909. p. 188.

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS.

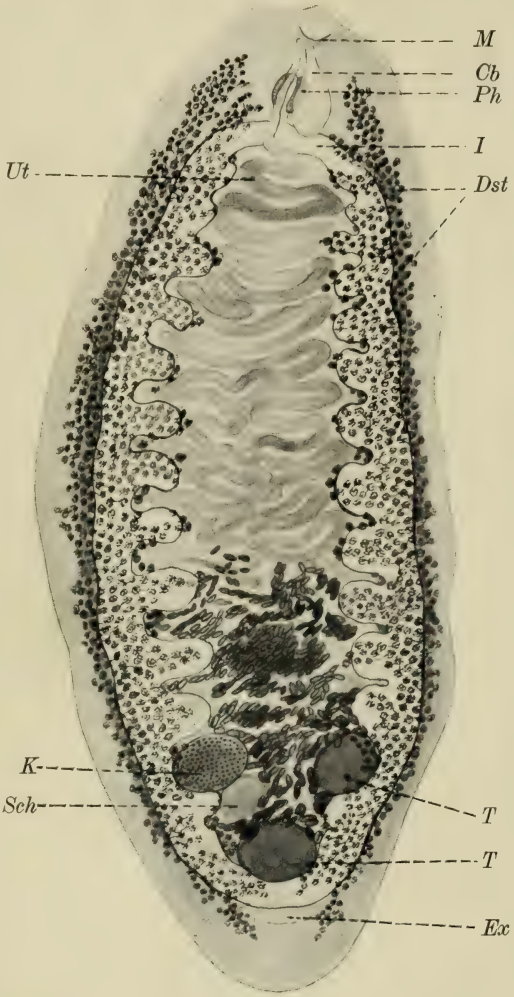


Fig. 2.

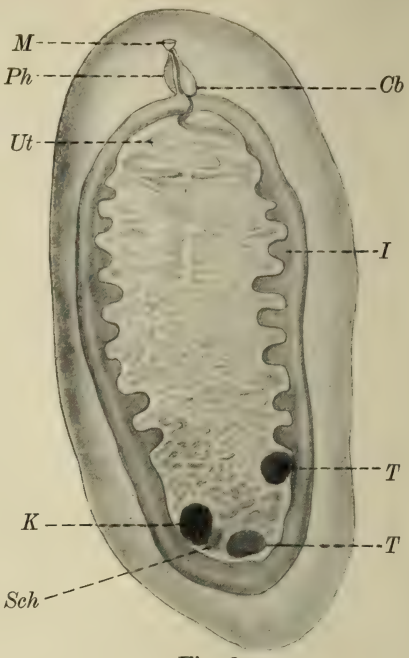


Fig. 3.

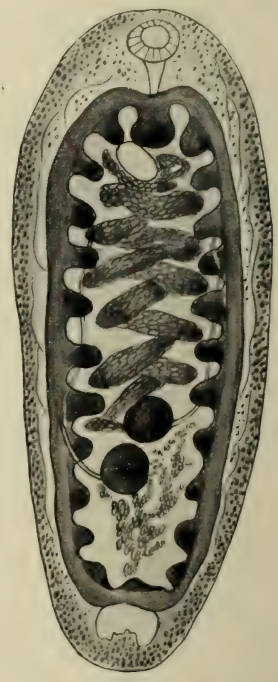


Fig. 4.

Fig. 1.

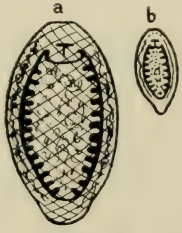


Fig. 5.

5) Magalhães, Notas helminthologicas. (Revista brazil. de med. Vol. 1. 1888. p. 14—17.)
6) — Notes d'elminthologie brésilienne. (Arch. d. Parasitol. T. 2. 1899. p. 258.)
7) Megnin, Un parasite nouveau et dangereux de l'oie cabuc. (Compt. rend. Soc. Biol. Paris. T. 11. 1890. p. 87.)
8) Braun, M., Ueber Distomum cucumerinum Rud. (Zoolog. Anz. Bd. 22. p. 467.)

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Tracheophilus sisowi n. g. n. sp., zwei Exemplare in natürlicher Größe (aus Paris). a Das größte, b ein mittleres Exemplar. Aus den Tracheen von Anas boschas domestica.

Fig. 2. Tracheophilus sisowi n. g. n. sp., reifes Exemplar (Paris. Tracheen von Anas boschas domestica.) Vergr. 23:1.

Fig. 3. Tracheophilus sisowi n. g. n. sp., junges Exemplar aus Turkestan aus den Tracheen von Anas boschas L. Vergr. 23:1.

Fig. 4. Tracheophilus sarcidiornicola Megnin, aus den Tracheen von Sarcidiornis melanota (Madagaskar). Kopie der Kopie in der Megninschen Arbeit.

Fig. 5. (Typhlocoelum?) obovale Neumann, aus den Tracheen von Anas boschas brasiliensis. Kopie nach Magalhães. a vergrößert, b natürliche Größe.

Erklärung der Abkürzungen.

Cb Cirrusbeutel, *Dstt* Dotterstöcke, *Ex* Exkretionsblase, *I* Darm mit Blindsäcken, *K* Keimstock, *M* Mundöffnung, *Ph* Pharynx, *Sch* Schalendrüse, *T* Hoden, *U* Uterus.

Nachdruck verboten.

Die Bakterizidie der Pyocyanase.

Eine Zurückweisung der Abhandlung Isabolinskys im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 67. p. 532.

Von **R. Emmerich** und **O. Loew**, München.

Die Tatsache, daß die Pyocyanase eine sehr starke bakterizide Wirkung besitzt, ist durch gründliche Untersuchungen vieler tüchtiger Forscher so sicher erwiesen, daß weitere Untersuchungen an dieser Tatsache nichts mehr zu ändern vermögen. Wir hatten schon im Jahre 1897 folgende Resultate erhalten:

In 1 ccm Pyocyanase + 0,2 ccm Bouillon waren enthalten	Sofort bei Aussaat	Nach 3 Minuten	Nach 10 Minuten
Diphtheriebacillen	28 385 000	14 520	0
Cholerabacillen	19 550 000	0	0
Anthraxbacillen	12 200 000	—	0
Streptococcus pyogenes	58 500 000	1 500	0

Von 157 500 000 Typhusbacillen waren nach 3 Minuten nur noch 82 340 000 lebend, nach $2^1/_2$ Stunden noch 1 370 000, und nach 8 Stunden waren alle abgetötet.

Schapiro konstatierte unter Rubners und Fickers Leitung eine noch stärkere Bakterizidie der Pyocyanase:

In 1 ccm Pyocyanase + 0,2 ccm Bouillon waren enthalten	Sofort bei Aussaat	Nach 3 Minuten	Nach 10 Minuten
Choleravibrionen	17 520 000 000	0	0
Streptococcus pyogenes	57 000 000	5000	0
Pneumococcus Fraenkel	103 000 000	0	0

12 048 000 000 Eiterstaphylokokken waren von 1 ccm Pyocyanase innerhalb 6 Stunden bis auf 31 000 und innerhalb 24 Stunden vollständig abgetötet.

Auch Tavernari[1]), Vaerst[2]), Glaser, Mühsam, Weil, Knorr, Okubo, Raubitschek und Russ und andere Bakteriologen haben über die ganz hervorragenden bakteriziden Wirkungen der Pyocyanase berichtet, und im Sächsischen Serumwerk wird die Bakterizidie der Pyocyanase, ebenso wie die bakteriolytische Wirkung, durch tägliche Untersuchungen kontrolliert. Vaerst beobachtete sogar die völlige Abtötung und Auflösung des Anthraxbelags von Schrägagar durch Pyocyanase. Diese sicher begründete und tausendfältig durch die klinische Erfahrung bestätigte Tatsache von der hohen Bakterizidie der Pyocyanase wagt nun Herr Isabolinsky in Zweifel zu ziehen, ja er behauptet direkt, „daß die Pyocyanase keine bakteriziden Eigenschaften besitzt." Dabei stützt sich Herr Isabolinsky nicht etwa auf ein reiches, durch eine einwandfreie Methodik erlangtes Zahlenmaterial, sondern benützt ein gänzlich verwerfliches und unbrauchbares Verfahren zur Ermittelung der Bakterizidie der Pyocyanase, mit dem man gar nicht imstande ist, die letztere ziffernmäßig festzustellen. Er schleudert die völlig aus der Luft gegriffene Behauptung, „daß die Pyocyanase keine bakteriziden Eigenschaften besitzt", in die bakteriologische Literatur, ohne auch nur einen einzigen Zahlenwert zu ihrer Begründung anführen zu können. Man weiß nicht, was man davon halten soll, wenn Herr Isabolinsky sagt: „Für die Untersuchungen der bakteriziden Eigenschaften in vitro hielt ich die Methodik der Aussaat auf festem Nährboden mit darauffolgender Zählung der Kolonieen, wie sie früher von vielen Autoren angewendet wurde, für überflüssig." Die Methode also, welche von allen Bakteriologen als die einzig sichere zur ziffernmäßigen Feststellung der Bakterizidie anerkannt ist und angewendet wird, hält Herr Isabolinsky „für überflüssig"; er impft einfach verschiedene Bakterienkulturen in Bouillon, gießt $^1/_2$ oder 1 ccm Pyocyanase hinzu „und studiert dann alle 24 Stunden die makro- und mikroskopischen Eigenschaften der Bakterien im hängenden Tropfen und gefärbten Präparat."

Dabei gibt er nicht einmal an, welche Menge von Bouillon er mit Pyocyanase gemischt hat. Jedenfalls aber benützte er ziemlich konzentrierte Aufschwemmungen, da er selbst nach 5 Tagen im hängenden Tropfen noch intakte Bakterien gesehen haben will; daß dieselben aber nicht intakt, sondern abgetötet waren, geht daraus hervor, daß bei der Ueberimpfung auf Schrägagar bei Diphtherie-, Anthrax-, Suisepticus- und rhusiop.-suis-Bacillen kein Wachstum erhalten wurde. Aus diesem Befund hätte Isabolinsky schließen müssen, daß die Pyocyanase bakterizide Eigenschaften besitzt, und es wäre nun seine Pflicht gewesen, die Größe dieser Bakterizidie durch Plattenzählungen festzustellen. Statt dessen begnügt er sich mit der mikroskopischen Untersuchung, bei welcher man neben den durch Quellung und Auflösung des Protoplasmas bedingten merkwürdigen sogenannten „Involutionsformen", eine große Masse feinster Kernreste, die Residuen der vielen völlig aufgelösten Bakterien, sowie stets auch noch nach Tagen eine größere Zahl morphologisch intakter, aber abgetöteter Bacillen sieht. Diese Kernreste oder aber Verunreinigungen seiner „Reinkulturen" haben Herrn Isa-

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 31. p. 793.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 31. p. 306.

bolinsky zu der Bemerkung veranlaßt: „Auch wenn ich keine Reinkultur eines bestimmten Mikroorganismus (bei der Ueberimpfung auf Schrägagar) bekommen konnte, fand ich einige Kokken (in Bacillenkulturen!), die sich entweder nach Gram färben oder entfärben."

Bei der Behandlung von mit Anthrax- und Suisepticus-Bacillen sowie mit Streptokokken infizierten Mäusen mit einmaliger Pyocyanaseinjektion beobachtete Isabolinsky, wie die anderen Autoren vor ihm (Emmerich und Loew, Tavernari, Vaerst etc.), insofern eine günstige Wirkung, als der Tod viel später eintrat als bei den Kontrolltieren, so z. B. bei gleicher Anthraxinfektion bei den Kontrollmäusen in 15 Stunden, bei den mit Pyocyanase behandelten Mäusen aber nach 31 und 36 Stunden. Da die Kontrollmaus schon innerhalb 15 Stunden starb, so war die Kultur sehr virulent und die Kulturmenge eine vielfach tödliche. Hätte Isabolinsky die einfach oder nur mehrfach tödliche Kulturmenge und wiederholte Pyocyanaseinjektionen angewendet, dann wären sicherlich, wie bei den Versuchen von Tavernari, Vaerst und Emmerich und Loew, die behandelten Tiere geheilt worden. Tavernari z. B. beobachtete bei Kaninchen nach der subkutanen Injektion von 12—24 ccm Pyocyanase nur den verzögerten Eintritt des Todes, nach der Injektion von 56—60 ccm aber völlige Heilung des Milzbrandes. Obgleich nun Isabolinsky in dem verzögerten Eintritt des Todes bei den infizierten und mit Pyocyanase behandelten Mäusen die bakterizide Wirkung der letzteren vor Augen hat, so zieht er unbegreiflicherweise den ganz unberechtigten Schluß: „Alle bisher erwähnten Versuche haben erwiesen, daß die mir zur Verfügung stehende Pyocynase aus Lingners Laboratorium keine bakteriziden Eigenschaften weder in vivo, noch in vitro besitzt."

Da die Pyocyanase leicht aus dem Sächsischen Serumwerk zu erhalten ist, und da auch die Feststellung der Bakterizidie der Pyocyanase eine leichte Arbeit ist, so wird dieses Thema mit Vorliebe für bakteriologische Erstlingsarbeiten und Schülerübungen gewählt. Wir haben schon einmal eine mangelhafte Arbeit in dieser Zeitschrift[1]) zurückgewiesen.

Es muß verlangt werden, daß in Zukunft jeder, welcher über die Bakterizidie der Pyocyanase generell urteilen und nicht bloß eine einzelne Probe prüfen will, die Darstellung des Präparates selbst übernimmt und sich vergewissert, daß alle jene Bedingungen in bezug auf die Zusammensetzung der Nährlösung und hinsichtlich des Kulturverlaufs erfüllt waren, welche notwendig eingehalten werden müssen, wenn man hoch bakterizide, bakteriolytische und antitoxische Pyocyanase gewinnen will.

Isabolinsky ist sich der Tragweite seiner fehlerhaften Untersuchungen und falschen Schlußfolgerungen offenbar nicht bewußt. Jeder tüchtige Bakteriologe wird zwar die Unrichtigkeit der Untersuchungen und Angaben Isabolinskys erkennen, viele Aerzte aber werden sich in der Annahme, eine exakte bakteriologische Arbeit vor sich zu haben, von der weiteren Anwendung der Pyocyanase abhalten lassen; denn Herr Isabolinsky sagt: „Es hat sich herausgestellt, daß in der Praxis die Pyocyanase sich nicht bewährte." Diese Behauptung, welche der Wahrheit ins Gesicht schlägt, kann nicht energisch genug verurteilt

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 50. p. 220.

werden. Mehr als 120 namhafte Autoren haben in höchst sorgfältigen, klinischen Arbeiten die glänzenden Wirkungen der Pyocyanase nicht nur bei Diphtherie, sondern auch bei zahlreichen anderen Erkrankungen erwiesen, so daß einer derselben mit Recht sagt, daß man den Wert einer richtig hergestellten Pyocyanase dem des Serums ebenbürtig an die Seite stellen dürfe. Auf die richtige Herstellung der Pyocyanase kommt natürlich alles an.

Herr Isabolinsky hat es zu verantworten, wenn in Zukunft vielen Kranken die wohltätigen und oft lebensrettenden Wirkungen der Pyocyanase vorenthalten werden, und wenn insbesondere viele Kinder, die an schwerer „septischer" Diphtherie erkrankt sind, ohne Pyocyanase sterben, während sie bei Anwendung derselben gerettet worden wären.

Nachdruck verboten.

Ueber die praktische Verwertbarkeit der Säureagglutination nach Michaelis.

[Aus dem Bakteriologischen Untersuchungsamt Charlottenburg (Leiter: Prof. Dr. A. Dietrich).]

Von Dr. **L. R. Grote,** Assistenten.

Die bakteriologische Diagnostik ist durch das Verfahren der Säureagglutination nach Leonor Michaelis um ein Hilfsmittel bereichert worden, das in theoretischer und praktischer Beziehung Beachtung verdient. Der Wert des Verfahrens liegt einmal auf prinzipiellem Gebiet, insofern, als zielbewußt Tatsachen der physikalischen Chemie für die Lösung diagnostisch-bakteriologischer Fragen herangezogen werden, indem Bakterien, so komplex zusammengesetzt sie sein mögen, als Ganzes, als ein einheitliches Reagens verwendet werden, zum andern in ihrer einfachen Anwendbarkeit in der bakteriologischen Praxis. Das Anwendungsgebiet der Verfahrens liegt wesentlich im Bereich der Coli-Typhus-Gruppe, bei der jede Methode, die den Diagnosengang vervollständigt, indem sie eine Eigenschaft dieser Bakterien aufdeckt, deren Spezifität hinlänglich zur Erkennung der einzelnen Arten ausreicht, auf das wärmste zu begrüßen ist. Das Verfahren hat in der Literatur eine im ganzen günstige Beurteilung erfahren, da aber trotzdem, nach allem zu urteilen, eine weitere Verbreitung und Beachtung noch aussteht, scheinen einige kurze Bemerkungen über ihre Verwertbarkeit in der Praxis wohl am Platze.

Es liegt nicht im Rahmen dieser Mitteilung, ausführlich auf die der Säureagglutination zugrunde liegenden physikalisch-chemischen Einzelheiten einzugehen, zumal das von berufener Seite wiederholt geschehen ist[1]); ich darf mich in dieser Beziehung also auf das Notwendigste beschränken:

Eiweißlösungen sind als elektroamphotere Kolloide aufzufassen. Beim Durchgang des elektrischen Stromes wandert in saurer Lösung das Ei-

---

1) Michaelis, Deutsche med. Wochenschr. 1911. p. 969. — Beniasch, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 12. p. 268.

weiß zur Kathode, in alkalischer Lösung zur Anode. Der isoelektrische Punkt, d. h. der Zustand der Eiweißlösungen, in dem zwischen den Eiweißmolekülen und den umgebenden Wassermolekülen eine Potentialdifferenz nicht mehr besteht, liegt nach Michaelis' Untersuchungen bei schwach saurer Reaktion. Und zwar entspricht in diesem Falle den verschiedenen Eiweißarten immer eine bestimmte Konzentration von freien Wasserstoffionen. Es erwies sich gleichzeitig, daß bei Erreichung dieses isoelektrischen Punktes jeweils eine Ausflockung der betreffenden Eiweißlösung statthatte, deren Intensitätsoptimum genau mit der Wasserstoffionenkonzentration (für die das kurze Zeichen [H·] üblich und im folgenden verwendet ist) dieses Punktes übereinstimmte. Bakteriensuspensionen erwiesen sich nun als völlig diesen Regeln unterworfen, d. h. reagierten unter wechselnder [H·] mit Ausflockung wie genuine Eiweißlösungen. Allerdings lassen Bakterienemulsionen bei Aenderung der [H·] nicht auch eine Beeinflussung ihres elektrischen Zustandes hervortreten. Dieser Widerspruch wird aber erklärt durch ihre komplexe Zusammensetzung. Nur eine bestimmte Gruppe, nämlich der in den Bakterienleibern enthaltenen Stoffe (Globuline, Nukleoproteide und Lipoide) flocken im isoelektrischen Punkt aus. Da aber das Bakterienprotoplasma außer diesen Körpern, die der angegebenen Regel folgen und praktisch das Ausflocken bewirken, noch eine erhebliche Anzahl anderer Stoffe enthält, für die isoelektrischer Punkt und Ausflockungsoptimum nicht zusammenfällt, so ist es begreiflich, daß der gesamte Bakterienleib doch auf Grund dieser sich different verhaltenden Substanzen nicht auch im ganzen in bezug auf sein elektrisches Verhalten der Regel folgt, wie es die ausflockenden Substanzen jede für sich allein tun. Entsprechend den verschiedenen Eiweißarten flocken die verschiedenen Bakterienarten bei im ganzen konstanten [H·] aus. Dies das Prinzip der Methode.

Die Methodik gestaltet sich nach Michaelis praktisch höchst einfach: Es wird eine Reihe von Säuregemischen mit steigender [H·] folgendermaßen hergestellt:

Säuregemisch	I	enthält	7,5	ccm	1/1 n	Essigsäure	und	5	ccm	1/1 n Natronlauge
„	II	„	10,0	„	1/1 n	„	„	5	„	1/1 n „
„	III	„	15,0	„	1/1 n	„	„	5	„	1/1 n „
„	IV	„	25,0	„	1/1 n	„	„	5	„	1/1 n „
„	V	„	45,0	„	1/1 n	„	„	5	„	1/1 n „
„	VI	„	85,0	„	1/1 n	„	„	5	„	1/1 n „

Die verwendeten Normallösungen müssen mittels Phenolphtalein genau gegeneinander eingestellt sein. Die Mischungen werden mit destilliertem Wasser auf je 100 ccm aufgefüllt. Ein Kristall Thymol sichert gegen bakterielle Verunreinigung. Die Säuregemische sind dann lange haltbar. Ferner ist nötig eine Bakterienaufschwemmung der zu untersuchenden Art in destilliertem Wasser. Es ist nach meinen Erfahrungen nicht erforderlich, absolut säurefreies destilliertes Wasser zu benutzen. Die Resultate weichen von denen mit gewöhnlichem destillierten Wasser erzielten nicht ab. Die Verwendung von Kochsalzlösungen hat auf die Ausflockung in hemmendem Sinne Einfluß und verbietet sich daher. Die Dichte der Aufschwemmung soll etwa eine Schrägagarkultur auf 25 bis 30 ccm Wasser betragen. Zum Versuch werden nun zu je 1 ccm der Säuregemische im Reagenzglas 3 ccm der Bakterienaufschwemmung hinzugefügt. Die Ausflockung tritt meist schon bei Zimmertemperatur ein, doch beschleunigt die Brutschranktemperatur von 37° den Ablauf

der Reaktion wesentlich. In der Regel ist das endgültige Resultat innerhalb 30—45 Minuten zu erwarten.

Für den Typhusbacillus bilden nun nach Michaelis die [H·] der Röhrchen 3 und der benachbarten das Ausflockungsoptimum, das mit genügender Spezifität eingehalten wird. B. coli wird gar nicht ausgeflockt, B. paratyphi B in Röhrchen 5 und 6. Die Optima der übrigen zur Coli-Typhusgruppe gehörigen Bakterien sind nicht so scharf begrenzt. In der Literatur werden diese Normwerte in der Hauptsache bestätigt.

Meine Untersuchungen erstreckten sich auf 10 Typhusstämme, 10 Stämme Paratyphus B, 4 Stämme B. faecalis alcaligenes,

Typhus		I	II	III	IV	V	VI
1. Köhne	10 Min.	—	—	?	+	?	?
	40 „	—	—	++	++	+	?
2. Brandecker	10 „	—	—	?	+	+	+
	40 „	—	—	+++	+++	+++	+
3. Laschke	10 „	—	—	?	+	+	+
	40 „	—	—	++	+++	+++	+
4. Roth	10 „	—	—	?	++	+	+
	40 „	—	—	+++	+++	+++	++
5. Wacker	10 „	—	—	?	?	+	?
	40 „	—	—	++	+++	+++	+
6. Kersch	10 „	—	—	?	+	+	?
	40 „	—	—	++	++	+	+
7. Bahlke	10 „	—	—	+	++	++	+
	40 „	—	—	+++	+++	+++	++
8. Schmidt	10 „	—	—	+	+	+	+
	40 „	—	—	++	+++	+++	+
9. Henske	10 „	—	—	—	—	—	—
	40 „	—	—	+	+	+	—
10. „151“	10 „	—	—	?	—	—	—
	40 „	—	?	++	+	—	—

Paratyphus B		I	II	III	IV	V	VI
1. Runge	10 Min.	—	—	—	—	—	+
	40 „	—	—	—	—	—	+++
2. Volkmann	10 „	—	—	—	—	—	+
	40 „	—	—	—	—	—	++
3. Pobbig	10 „	—	—	—	—	—	+
	40 „	—	—	—	—	—	+++
4. Stepanski	10 „	—	—	—	—	—	+
	40 „	—	—	—	—	+	+++
5. Schätzchen	10 „	—	—	—	—	—	—
	40 „	—	—	—	—	—	++
6. Kling	10 „	—	—	—	—	—	+
	40 „	—	—	—	—	—	+++
7. Buckay	10 „	—	—	—	—	?	+
	40 „	—	—	—	++	+	+
8. Mölle	10 „	—	—	—	—	—	+
	40 „	—	—	+	+	+	++
9. R. V. K.	10 „	—	—	—	—	—	—
	40 „	—	—	—	—	—	—
10. Bernhardt	10 „	—	—	—	—	—	+
	40 „	—	—	—	++	+	+

je einen Stamm B. enteritidis Gärtner und Paratyphus A. Zum größten Teil sind diese Stämme aus Eingängen des Untersuchungsamtes Charlottenburg isoliert worden, einige stammten aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten, Berlin. Ihre Identifizierung erfolgte mittels der üblichen Kulturmethoden und durch die spezifische Agglutination. In der folgenden Tabelle sind die Resultate der Säureagglutination mit den Typhus- und Paratyphus-B-Stämmen in der Weise angeordnet, daß jeweils die Ablesungen 10 und 40 Minuten nach dem Ansetzen untereinander verzeichnet sind. Mit + ist eine allgemein auftretende kleine Flöckchenbildung gekennzeichnet, ++ bedeutet Auftreten größerer, isolierter Flocken neben vielen kleinen, +++ Absetzen der Flocken am Boden des Reagenzglases mit allmählicher Klärung der überstehenden Flüssigkeit, ? angedeutete Reaktion = mit der Lupe eben erkennbar.

Im allgemeinen sei bemerkt, daß sich das Verhalten der durch Säure agglutinierten Bakterien von dem durch spezifisches Serum agglutinierten durch den Augenschein in einem Punkte scharf unterscheidet. Die Säureagglutination läßt die Bakterien in viel lockereren, auch größeren Ballen ausfallen, als das das spezifische Serum je tut. Durch leichtes Aufschütteln wird eine völlige Homogenisierung leicht erreicht, der erst nach längerer Zeit erneutes Absitzen wieder folgt, während die durch spezifisches Serum zusammengeklebten Bakterien auch kräftigem Schütteln bekanntlich standhalten. Es ist dies vielleicht darauf zurückzuführen, daß der Vorgang bei beiden Reaktionen im Grunde ein verschiedener ist. Der Säureagglutination fehlt die erste Phase des Vorgangs bei der spezifischen Agglutination: Die Beeinflussung der agglutinablen Substanz des Bakteriums durch das Agglutinin, und nur die zweite Phase, die Ausflockung durch Salze, ohne die eine Ausflockung nicht zustande kommt und die in unserem Falle durch die Wasserstoffionen vertreten werden, kommt zum Ausdruck.

Aus dieser Tabelle geht nun hervor, daß eigentlich nur bei einem der untersuchten Typhusstämme die Forderungen Michaelis' voll erfüllt werden. Nur „Typhus 151" zeigt maximale Ausflockung im Röhrchen 3, geringe oder angedeutete in den benachbarten. Bei 8 Stämmen zeigt sich Ausflockung noch bis zum Röhrchen 6, häufig gleich starke Ausflockung in 3, 4, 5. Bei 6 Stämmen liegt das Optimum sicher nicht bei Säuregemisch 3, sondern bei stärkeren Konzentrationen. Sehr wichtig für den gleichmäßigen Ausfall der Reaktion ist, daß immer nur mit frischen Agarkulturen gearbeitet wird. Meine Versuche sind mit etwa 20-stündigen Kulturen angestellt. In Kulturen, die schon längere Zeit stehen, nimmt die Agglutinabilität schnell ab. So agglutinierte z. B. der Typhus „Brandecker" (No. 2 der Tabelle) nach 20-stündigem Wachstum schon innerhalb 10 Minuten in drei Röhrchen, während eine 5 Tage alte Kultur desselben Stammes erst nach 4-stündigem Brutschrankaufenthalt schwache Ausflockung in Röhrchen 3 erkennen ließ. Es bestätigt sich damit der Satz, daß schwer agglutinable Kulturen das Optimum des betreffenden Bakteriums zwar später, aber schärfer anzeigen. Was die Zeiten anlangt, innerhalb deren die Ausflockung auftritt, so beweist ihr frühes Auftreten (innerhalb 10 Minuten) nichts für ihre endliche Intensität. So trat in Fall 2, 3, 8 die Ausflockung im 6. Röhrchen gleichzeitig mit den übrigen auf, um aber an Intensität alsbald von diesen überholt zu werden. Es empfiehlt sich, als obere Grenze etwa die Zeitdauer einer Stunde festzusetzen, innerhalb deren man die

Reaktion als abgeschlossen zu betrachten hat. Länger ausgedehnte Beobachtungszeiten zeigen nicht selten, daß z. B. nach 24 Stunden auch in den übrigen Röhrchen unter Umständen recht erhebliche Ausflockung stattfinden kann. Die Stämme des Paratyphus B halten sich im allgemeinen sehr streng an ihr Optimum in Röhrchen 6, doch kommen auch hier Ausnahmen vor (Stämme: „Bukay", „Bernhardt"). Der Stamm 9 war bei wiederholten Versuchen niemals zur Agglutination zu bringen. Ein Vergleich mit der Serumagglutination zeigte, daß der Stamm auch von den spezifischen Agglutininen nur unvollkommen beeinflußt wurde. Von einem Paratyphus B-Immunserum, das den Titer 1:2000 hatte, wurde er nur bis 1:800 agglutiniert, während andere Stämme die Titergrenze erreichten. In dieser Tatsache spricht sich zwar ein deutliches Parallelgehen von Serum- und Säureagglutinationsfähigkeit aus, dennoch aber auch eine größere Feinheit der spezifischen Agglutination.

Vergleichen wir die gefundenen Agglutinationsoptima für Typhus und Paratyphus B, so läßt sich sagen, daß eine Trennung dieser beiden Arten mittels der Säureagglutination sich mit hinlänglicher Eindeutigkeit durchführen läßt.

Die 4 von mir untersuchten Stämme des B. faecalis alcaligenes ergaben folgende Resultate:

		I	II	III	IV	V	VI
1. Müller	10 Min.	—	—	—	—	—	—
	40 „	—	—	—	?	++	++
2. Danzig	10 „	—	—	—	—	—	—
	40 „	—	—	—	—	?	+
3. Urbig	10 „	—	—	—	—	—	—
	40 „	—	—	—	—	—	++
4. J.	10 „	—	—	—	—	—	—
	40 „	—	—	—	—	?	?

Es zeigt sich eine weitgehende Uebereinstimmung mit dem Paratyphus B, so daß diese beiden Arten durch die Säureagglutination nicht zu unterscheiden sind.

Der untersuchte Stamm des B. enteritidis Gärtner zeigte optimale Agglutination in Röhrchen 5 und 6, wurde schwächer gleichzeitig in Röhrchen 2, 3, 4 agglutiniert. In keinem Röhrchen endlich wurde unser Paratyphus-A-Stamm ausgeflockt.

Rost und Schidorsky wiesen des weiteren auf eine Anwendungsmöglichkeit der Säureagglutination hin, die praktisch unter Umständen von erheblicher Bedeutung sein könnte. Sie stellten Säureagglutinationsversuche mit Mischkulturen an bzw. mit Abschwemmungen von solchen. Es sollten auf diesem Wege Kolonieen von Typhusbacillen identifiziert werden können auf Plattenkulturen, die dem Anschein nach Typhusbacillen nicht enthielten. Es kommt dies z. B. bei Benutzung von Lackmuslaktoseagar dann in Frage, wenn bei sehr reichlichem Coli-Wachstum die gebildete Säure derart in die Umgebung diffundiert, daß auch der Untergrund etwa gewachsener zarter Typhuskolonieen rot gefärbt wird und so diese Kolonieen leicht der Beachtung und Feststellung entgehen können. Wenn mit Abschwemmungen solcher Platten die Säureagglutination ausgeführt wird, ließe sich durch das Ausflocken der

vorhandenen Typhuskeime eine Diagnose immer noch stellen. Ich stellte in dieser Richtung ebenfalls einige Versuche an, die zu den folgenden Ergebnissen führten: Es wurde von einer großen Drigalski-Platte, auf der neben etwa 120—150 Coli-Kolonieen 3 blaue Typhuskolonieen gewachsen waren (eine von diesen wurde zur Identifizierung abgestochen), eine Abschwemmung mit destilliertem Wasser hergestellt. Diese Abschwemmung, die zunächst stark sauer reagierte, wurde mit Normallauge neutralisiert, um die [H·] der Säuregemische nicht zu ändern. Dann wurde die Säureagglutinationsreihe angesetzt. Auch nach 24-stündiger Beobachtungszeit konnte keine für Typhus charakteristische Ausflockung festgestellt werden. Bei 3 weiteren Untersuchungen von demselben Krankheitsfall, bei denen die Drigalski-Platte nur rote Kolonieen aufwies, wurde gleichfalls nur ein negatives Resultat erzielt. Es taucht die Frage auf, in welchem Mengenverhältnis die Typhus- und Coli-Bacillen vorhanden sein müssen, um die Typhusausflockung noch deutlich sichtbar werden zu lassen. Um dies zu beantworten, wurden Versuche in folgender Weise angesetzt: Aufschwemmungen von Coli- und Typhusagarkulturen von annähernd gleicher Dichtigkeit (nach dem makroskopischen Aussehen beurteilt) wurden in den Verhältnissen 10 : 10, 15 : 5, 18 : 2 miteinander gemischt und mit den Mischungen die Säureagglutination angestellt. In den beiden ersten Fällen trat schon nach 10 Minuten Ausflockung in den Röhrchen ein, die der verwendete Typhusstamm (Schmidt) auch in Reinkultur zeigte, nämlich in Röhrchen 3—6. Bei genauer zeitlicher Vergleichung der Resultate dieser Aufschwemmungsgemische mit der Reinkultur ergab sich nur ein etwas verzögerter Ablauf der Reaktion. Im Versuch 3, in dem die Typhusbacillen im Verhältnis von 2 : 18 mit Coli gemischt waren, ergab sich das bemerkenswerte Resultat, daß erst nach Ablauf 1 Stunde bei 37° C deutliche Ausflockung eintrat, die aber nur auf das Säuregemisch 3 beschräukt war. Auch nach 24 Stunden war in den anderen Röhrchen nichts von Ausflockung zu sehen. Es tritt hier also ein Parallelismus zutage zwischen dem Verhalten von schwer agglutinablen, alten Kulturen und dem von frischen, an sich gut agglutinablen Kulturen, wenn sie in einem Medium suspendiert sind, das selber nicht agglutiniert wird. In je geringerer Zahl die auszuflockenden Bakterien in diesem Medium enthalten sind, desto schärfer tritt das Optimum hervor. Nur ist dies Verhalten augenscheinlich an bestimmte Konzentrationsgrade gebunden, oberhalb deren zwar starke Ausflockung eintritt, nur mit nicht so evidentem Optimum, unterhalb deren eine Ausflockung nicht mehr nachgewiesen werden kann. Dies letztere Verhalten entspricht dem erwähnten Fall, bei dem das Verhältnis Typhus : Coli etwa 1 : 100 war. Es ist nun aber anzunehmen, daß, wenn in einem Stuhl nur 1 Typhusbacillus auf 100 Coli-Bacillen vorhanden ist und dies sich auf der Platte in entsprechendem Wachstum noch äußert, sich bei einem Verhältnis von 2 : 18 immer die Typhusbacillen kulturell leicht nachweisen lassen werden. Es ist also wohl damit zu rechnen, daß die Säureagglutination von Plattenabschwemmungen aus keine bündigeren Schlüsse zu ziehen erlaubt als das Plattenverfahren selbst, mit anderen Worten, daß die Sicherheit des Typhusnachweises nur mit Elektivnährböden nicht geringer ist als diejenige der Diagnosestellung auf Grund der Säureagglutination mit Mischkulturen. Hinzu kommt, daß andere im Stuhl vorkommende Bakterien anscheinend ähnliche Ausflockungsoptima zeigen wie Typhus. Einen solchen Fall von

positiver Reaktion bei sicher nicht vorhandenem Typhus deutet schon Schidorsky an. Mir gelang es in einem Falle, eine solche „Pseudo-Typhusausflockung“ in Röhrchen 3 und 4 auf einen proteusähnlichen Bacillus zurückzuführen, der in Reinkultur in den gleichen Säuregemischen ausgeflockt wurde.

Demnach ist die Sicherheit der Schlüsse, die man aus dem Ergebnis der Säureagglutination von Mischkulturen ziehen kann, für die Diagnose des Typhus im Verhältnis zur Sicherheit des Plattenverfahrens wohl eine geringere. Für die Identifizierung von Reinkulturen ist die Methode (besonders für Typhus und Paratyphus B) recht brauchbar, ohne die spezifischen serologischen Methoden ersetzen zu können; ihrer Verwendung bei Mischkulturen läßt sich ohne weiteres noch nicht das Wort reden.

Literatur.

1) Michaelis, Leonor, Dtsche med. Wochenschr. 1911. No. 21.
2) Rost, Franz, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 60. Heft 3/4.
3) Beintker, Klin. Jahrb. Bd. 26. Heft 3.
4) Jaffé, Arch. f. Hyg. Bd. 76. Heft 1/2.
5) Schidorsky u. Reim, Dtsche med. Wochenschr. 1912. Heft 24.
6) Beniasch, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1912. Heft 1.

Nachdruck verboten.

Eine Modifikation von Bordet-Gengous Nährboden für die Keuchhustenbacillen nebst einigen Ergebnissen in serologischer Beziehung.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten zu Tokio, Direktor Prof. Kitasato, Abteilungsvorsteher Prof. Shiga.]

Von Prof. **K. Shiga**, Dr. **N. Imai** und Dr. **Ch. Eguchi**.

I.

Nach der Mitteilung von Bordet-Gengou über den Keuchhustenbacillus haben wir bei einer kleinen Epidemie in Tokio im Jahre 1907 über den Keuchhusten Untersuchungen angestellt und bei 10 Fällen den typischen Bordet-Gengouschen Bacillus bestätigt. In der „Japanischen Bakteriologischen Monatsschrift“ sind darüber zwei Mitteilungen (im Jahre 1908 und 1910) erschienen, über welche hier kurz zusammengefaßt berichtet werden soll.

Es stellte sich heraus, daß Bordets Bacillus auf Blutagar, wenn derselbe auf 56° C $^1/_2$ Stunde erwärmt wird, ein sehr üppiges Wachstum zeigt. Auf solchem erwärmten Blutagar wächst der Bacillus in ziemlich dicken Belagen, während er auf dem nicht erwärmten Blutagar nur kaum sichtbare, kleine Kolonieen bildet. Mein Nährboden wird, wie folgt, verfertigt:

Geschälte und dann zerkleinerte Kartoffeln 500 g
4-proz. Glyzerinwasser 1000 ccm

werden $^1/_2$ Stunde im Autoklaven gekocht und dann durch Gaze filtriert.

Glyzerinwasser-Kartoffelextrakt 250 ccm
Fleischwasser 750 „
Agar 20 g

werden im Dampftopf eine Stunde gekocht, schwach alkalisch gemacht und filtriert. Dem Filtrat werden 1 Proz. Pepton Witte und 0-5-proz. NaCl zugesetzt und in Röhrchen verteilt. Diesem Agar, welcher gelöst und auf 50° C abgekühlt ist, wird Rinder- resp. Pferdeblut etwa im Verhältnis von 1:4 zugesetzt. Dieser Blutagar wird schräg gehalten oder eventuell in Petrische Schalen ausgegossen. Nach dem Erstarren wird der Blutagar bei 56° C ½ Stunde erwärmt.

Der Influenzabacillus wächst auf diesem Blutagar übrigens ebenso gut wie der Keuchhustenbacillus.

II.

In den Jahren 1907—1910 haben wir etwa 50 Fälle von Keuchhusten untersucht und in der vorwiegenden Anzahl der Fälle Bordets Bacillus gefunden. Falls das Material einen frischen Bronchialauswurf bildete, haben wir ziemlich jedesmal den Bacillus auf unserem Blutagar fast in reinem Zustande wachsen sehen.

Dr. Imai und Eguchi haben einige serologische Untersuchungen mit dem Keuchhustenbacillus angestellt. Für die Agglutinationsprüfung ist dieser Bacillus überhaupt ungeeignet, da die Bacillen leicht zu Boden sinken, ohne deutliche Klümpchen zu bilden, ebenso auch im Kontrollröhrchen. Dr. Imai hat bei den Komplementbindungsversuchen mit dem Serum von Rekonvaleszenten positive Resultate bekommen und die Angaben von Bordet-Gengou völlig bestätigen können.

Wir kamen zur Frage, ob Bordets Bacillus sich vom Influenzabacillus durch Immunitätsreaktion sicher unterscheiden läßt. Eguchi hat, um diese Frage zu entscheiden, Komplementbindungs- und Opsoninversuche angestellt.

Die Komplementbindungsversuche ergaben zu wiederholten Malen, daß beide Bacillen voneinander sich deutlich unterscheiden lassen, wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich ist.

Tabelle 1.

Antigen	Kaninchenserum	Menge des Immunserums: 0,01	0,005	0,0025	0,001	0,0005	0,00025	Kontrolle: 1	2
ıchhusten-B.	Keuchhusten-	0	schwach,	stark,	fast kompl.,	kompl.,	kompl.	kompl.,	kompl.
luenza-B.	serum	stark,	stark,	stark,	kompl.,	kompl,	kompl.		
ıchhusten-B.	Influenza-	0	0	Spur,	schwach,	fast kompl.,	kompl.	kompl.,	kompl.
luenza-B.	serum	schwach,	stark,	f. kompl.,	kompl.,	kompl.,	kompl.		

Als Antigen wurde die Bacillenaufschwemmung der Blutagarkultur angewendet, welche 24 Stunden in den Brutschrank gestellt wurde. Die Bacillenaufschwemmung wurde im Schüttelapparat behandelt, 0,5 Proz. Karbolsäure wurde zugesetzt, danach abzentrifugiert.

Kontrolle I enthält hämolytisches Serum, Komplement und Ziegenblutkörperchen.

Kontrolle II enthält dazu noch Antigen 0,1 ccm.

Die Opsoninversuche wurden angestellt, wie folgt:

1) Die Bacillenaufschwemmung wurde in der Weise hergestellt, daß 2,0 mg Bacillen einer 16-stündigen Blutagarkultur in 10 ccm Kochsalzlösung gut verteilt wurden.

2) Leukocyten vom frisch gewonnenen Pferdeblut.

3) Bacillenaufschwemmung, Leukocyten und Immunserum wurden in gleicher Menge in Kapillaren gemischt, welche an beiden Enden zugeschmolzen 15 Minuten in den Brutschrank gestellt wurden. Dann wurde ein Ausstrichpräparat von der Mischung auf dem Objektträger hergestellt.

Tabelle 2.

Kaninchenserum	Keuchhusten-bacillus	Influenza-bacillus	Bacillus M
Keuchhustenserum	1,82	0,12	0,43
Influenzaserum	0,09	1,58	0,15
M-Serum	1,36	0,04	1,78
Phagocyten-Index	2,14	3,3	4,7

Wie diese Tabelle zeigt, lassen der Keuchhusten- und Influenzabacillus durch Opsonin sich voneinander deutlich unterscheiden.

Hinzugefügt seien noch einige Bemerkungen über einen Bacillus M, welcher von einem keuchhustenkranken Kind bei einer kleinen Epidemie im Jahre 1909 isoliert wurde. Dieser Bacillus zeigt sich in den Immunitätsreaktienen mehr oder weniger abweichend von den anderen Keuchhustenbacillen.

Im Opsoninversuche verhielt sich, wie in der Tab. 2 gezeigt ist, der Keuchhustenbacillus gegen Keuchhustenserum sowohl als auch gegen Serum M fast gleich, während der Bacillus M mit Keuchhustenserum nur schwach phagozytiert wurde, ungefähr so schwach wie mit Influenzaserum. Serum M wirkte dagegen stark opsonisch auf den Keuchhustenbacillus und Bacillus M, aber nur schwach auf den Influenzabacillus. Die Komplementbindungsversuche zeigten, daß Bacillus M dem Influenzabacillus näher steht. Es bewiesen nämlich Bacillus M und Influenzabacillus gegenüber Keuchhustenserum ganz dasselbe Verhalten. Gegenüber dem Serum M stimmen Keuchhustenbacillus und Bacillus M fast überein; aber dem Influenzaserum gegenüber nimmt Bacillus M eine Mittelstellung zwischen Keuchhustenbacillus und Influenzabacillus ein.

Tabelle 3.

Kaninchenserum	Antigen	Serummenge			
		0,01	0,005	0,0025	0,001
Keuchhustenserum	Keuchhustenbacillus	0	Spur	schwach	stark
	Bacillus M	Spur	stark	komplett	komplett
	Influenzabacillus	Spur	stark	komplett	komplett
Serum M	Keuchhustenbacillus	Spur	schwach	komplett	komplett
	Bacillus M	0	schwach	komplett	komplett
	Influenzabacillus	Spur	komplett	komplett	komplett
Influenzaserum	Keuchhustenbacillus	0	schwach	stark	komplett
	Bacillus M	0	Spur	schwach	stark
	Influenzabacillus	0	0	0	schwach

Schlußsätze.

1) Bordet-Gengous Bacillus und der Influenzabacillus stehen einander sehr nahe und gehören zu einer Gruppe. Sie lassen sich aber

durch die Komplementbindung und Opsoninreaktion voneinander unterscheiden.

2) Nach unserer Erfahrung ist es wahrscheinlich, daß es verschiedene Uebergangsformen zwischen dem Keuchhustenbacillus einerseits und dem Influenzabacillus andererseits gibt.

Hier sei noch hinzugefügt, daß Prof. Karasawa Keuchhustenkranke mit dem von uns hergestellten polyvalenten Vaccin und Immunserum (Ziege) behandelt hat. Er hatte dabei aber keine besonders guten Erfolge.

Nachdruck verboten.

Was leisten die von W. Pfeiler und W. Lentz angegebenen Nährböden in der Praxis?

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg i. Els., Abteilung für Typhusbekämpfung (Direktor: Geh. Rat. Prof. Dr. Uhlenhuth).]

Von Dr. **Th. Messerschmidt.**

Pfeiler und Lentz[1]) berichten über Versuche, die Nährböden für Bakterien einfacher und billiger herzustellen. Sie ersetzen das zu den bisherigen Nährböden gebräuchliche Fleischwasser durch die Ringersche Lösung in der Zusammensetzung, wie sie Carrel bei der Züchtung von Organstücken in vitro zur Verdünnung des Plasmas anwendet. Sie enthält im Liter Wasser 10 g Natrium chloratum, 0,2 g Kal. chlorat., 0,2 Calcium chlorat., 0,1 g Natrium bicarbon., 1,0 g Traubenzucker.

In dieser Lösung werden zur Bereitung des Agars 10 g Pepton und 20 g Agar-Agar — zur Bereitung der Gelatine 10 g Pepton und 150 g Gelatine — unter Kochen gelöst. Nach Klärung mit Eiweiß, Filtration und Sterilisation ist der Nährboden gebrauchsfertig.

Der so hergestellte Agar ist zweifellos bequemer und weniger mühsam herzustellen als der Fleischwasseragar, zudem kostet (nach Pfeiler und Lentz) das Liter nur 25 Pfg., während der sonst übliche Fleischwasseragar von den Autoren auf 60 Pfg. das Liter bei Verwendung von Pferdefleisch, auf 110 Pfg. bei Verwendung von Rindfleisch berechnet wird. Der in der hiesigen Anstalt verwendete Agar wird ohne Fleischwasser mit Liebigs Fleischextrakt hergestellt. Er hat folgende Zusammensetzung:

1000 ccm Wasser, 30 g Agar-Agar, 10 g Liebig-Fleischextrakt, 5 g Kochsalz 10 g Pepton Witte. Das Liter dieses Agars stellt sich auf etwa 40 Pfg. Das Wachstum der Bakterien auf diesem Nährboden ist ausgezeichnet. Ich untersuchte daher, ob der von Pfeiler und Lentz angegebene Agar das gleiche leistet, denn nur unter dieser Bedingung kann er sich in bakteriologischen Anstalten einbürgern, wo es sich darum handelt, pathogene Keime zu isolieren, die ja an und für sich empfindlicher sind als Saprophyten.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. p. 122.

Ich unternahm es daher, die Angaben von Pfeiler und Lentz nachzuprüfen und zu erweitern, indem ich in vergleichenden Untersuchungen zu bestimmen suchte, inwiefern sich der neue Agar von dem Fleischextraktagar in seiner Leistungsfähigkeit unterscheidet und ob sich der neue Agar eignet zur Herstellung der Nährböden nach Endo, nach Drigalski-Conradi und nach Löffler.

I.

Vergleichende Wachstumsprüfungen auf Fleischextraktagar und Agar nach Pfeiler und Lentz.

Diese Prüfungen wurden so ausgeführt, daß aus 24-stündigen Bouillonkulturen der unten angegebenen Bakterienstämme je ein Schräg-

Tabelle I.

Bakterienstamm	Wachstum auf Ringerscher Lösung-Agar nach		Wachstum auf Fleischextraktagar nach 24 Stunden
	24 Stunden	48 Stunden	
Typhus M	zartes spärliches Häutchen	spärliches Wachstum	üppiges gutes Wachstum
„ 36	dgl.	dgl.	dgl.
„ 67	„	„	„
„ 74	„	„	„
Diplococc. pneumoniae	kein Wachstum	kein Wachstum	zarte Kolonieen
Bac. pyocyaneus	zartes Häutchen, kein Farbstoff	eben erkennbarer graugrüner Farbstoff	kräftig. grünlich-blauer Farbstoff, üppiges Wachstum
Bac. dys. γ	kaum erkennbar	spärliches Wachstum	gutes Wachstum
„ „ Flexner	dgl.	dgl.	dgl.
„ „ Shiga-Kruse	kein Wachstum	eben erkennbar	mittleres Wachstum
Bac. paratyphi B	zart. spärl. Wachst.	spärliches Wachstum	kräftiges Wachstum
„ „ A	zartes Wachstum	zartes Häutchen	dgl.
Staph. pyog. aur.	schlechtes Wachst., Farbstoff eben erkennbar	zarte hellgelbe Kolonieen	goldgelbe üppige Kolonieen
Bac. anthracis	gutes kräftiges Wachstum	gutes kräftiges Wachstum	nicht besser als auf Ringerlös.-Agar
Tuberkelbac. Agar mit 2 % Glyzerinzusatz	nach 4 Wochen	kaum erkennbares Wachstum	mittleres erkennbares Wachstum n. 4 Woch.
Bac. L Paratyphus ähnlich	zarter kaum erkennbarer Belag	eben erkennbarer Belag	üppiges Wachstum
Bac. S Paratyphus ähnlich	kaum erkennbares Wachstum	zartes Wachstum	dgl.
Bac. mobilis Haenle	farbloses zartes Wachstum	zart gelbliches Wachstum	saftig leuchtend gelbes, üppiges Wachstum
Bac. coli	gutes kräftiges Wachstum	üppiges Wachtum	üppiges saftiges Wachstum
Streptoc. pyog.	kein Wachstum	eben erkennbare Kolonieen	erkennbare zarte Kolonieen
Bac. faecalis alcaligenes	kaum erkennbares Wachstum	zarter Belag	üppiger dicker Belag
Bac. prodigiosus	kein Farbstoff, mittleres Wachstum	mittleres Wachstum, leuchtend ziegelroter Farbstoff	eben beginnender Farbstoff, üppiges Wachstum, nach 48 Stunden saftig okergelber bis bräunlicher Farbstoff
Sarcina aurantiaca	spärliches, Wachst. kein Farbstoff	dgl. kein Farbstoff	gutes Wachstum, Farbstoff deutlich

agarröhrchen des neuen und des Fleischextraktagars beimpft wurde. Die Röhrchen wurden 3 × 24 Stunden bei 37° gehalten und täglich kontrolliert.

Die Alkaleszenz des mit Ringerscher Lösung bereiteten Agars ist ca. 1 Proz. Normalkalilauge höher als die des Fleischextraktagars. Letzterer ist für Lackmus alkalisch und steht etwa 2,1 Proz. Normalkalilauge unter dem Phenolphthaleïn-Neutralpunkt. Es wurde, um mit Nährböden gleicher Reaktion zu arbeiten, der Fleischextraktagar um 1 Proz. Normal KOH vermehrt.

Das Wachstum der geprüften Stämme ist, wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, auf dem nach Pfeiler und Lentz bereiteten Agar bedeutend schlechter als auf Liebig-Fleischextraktagar. Nur der Bac. anthracis und Bact. coli wuchs auf beiden Nährböden ziemlich gleichkräftig. Der Bac. dysent. Shiga-Kruse wuchs auf dem neuen Agar nicht. Die Farbstoffbildung des Bac. pyocyaneus, des Bac. mobilis Haenle und des Staphylococcus pyogenus aureus ist selbst nach 48 Stunden minimal.

Diese Tatsachen wurden auf 6 Agarnährböden, die von mir selbst unter Beachtung sämtlicher Kautelen an verschiedenen Tagen hergestellt waren, stets in gleicher eindeutiger Weise bestätigt. Eine Erklärung der Befunde, die einen Gegensatz zu Pfeiler und Lentz bedeuten, vermag ich nicht zu geben. Durch Fortzüchtung der Stämme auf diesem Agar wird das Wachstum eher schlechter als besser. Eine Gewöhnung der Stämme an den neuen Nährboden findet also nicht statt.

Das agglutinatorische Verhalten des spärlichen Bakterienrasen von Typhus und Bac. paratyphus B wurde auf dem neuen Agar nicht ungünstig beeinflußt.

Durch einen Zusatz von 2 Proz. Glyzerin zu dem Pfeiler und Lentzschen Agar wird das Bakterienwachstum im ganzen etwas verbessert, doch entspricht es nicht im entferntesten dem auf Fleischextrakagar. Eine Erhöhung der Alkaleszenz auf Phenolphthalein neutral, oder eine Erniedrigung auf Lackmus neutral hat auch keinen begünstigenden Einfluß.

II.

Im weiteren versuchte ich den Pfeiler-Lentzschen Agar zur Bereitung von Spezialnährböden. Diese werden in der hiesigen Abteilung zur Typhusdiagnose in großen Mengen gebraucht. Eine billigere Herstellung wäre daher sehr erwünscht. — Da der 2-proz. Agar zum Gießen großer, d. h. 20 ccm im Durchschnitt messender Platten zu weich ist, wurde der Agargehalt entsprechend den hier üblichen Vorschriften auf 4 Proz. erhöht.

a) Endo-Fuchsin-Nährboden.

Es wurden 500 ccm des Pfeiler und Lentzschen Agars versetzt mit: 1 Proz. Milchzucker, 0,1 Proz. Soda, 0,5 Proz. 10-proz. alkohol. Fuchsinlösung, 0,25 Proz. Natriumsulfit. Der mit diesen Zusätzen zu Platten gegossene Agar sah zarter und durchsichtiger als der Fleischextrakt Endo aus. Auf letzterem wuchsen die angewandten Stämme typisch; d. h. Coli undurchsichtig rot, Typhus und Paratyphus farblos, Wassertropfen ähnlich. Auf dem mit Pfeiler und Lentzschen Agar bereiteten Endo bildet Bac. coli keine Säure und kein Aldehyd, es

wuchs farblos. Bac. Typhus und Paratyphus waren nach 24 Stunden so spärlich gewachsen, daß die einzelnen Kolonieen kaum so groß wie Stecknadelspitzen waren.

Das farblose Wachstum des Bac. coli war durch für die vorhandenen Salze zu hohen Natriumsulfitgehalt bedingt, wie folgender Versuch zeigt. Es wurde der Gehalt an Na_2SO_3 verringert, während die übrigen Zusätze zum Pfeiler-Lentzschen Agar gleich blieben.

Tabelle II.

Endo mit	Wachstum von		
	Bac. Typhus	Bac. Paratyphus B	Bac. coli
Natr.-Sulfit 0,05%	farblose kleinste punktförmige Kolonieen	rötliche kleine Kolonieen	rote gut gew. Kolonieen
„ 0,1 %	dgl.	dgl.	dgl.
„ 0,15 %	„	kleine farbl. Kolonieen	„
„ 0,2 %	„	dgl.	farblose mittelgroße Kolonieen
„ 0,25 %	„	„	dgl.
Gewöhnlicher Fleischextr. Endo	durchsichtige tropfenartige kräftige Kolon.	üppige durchsichtige Kolonieen	leuchtend fuchsinrote üppige Kolonieen

Zur Bereitung des Endoschen Nährbodens eignet sich der mit Ringerscher Lösung hergestellte Agar also nicht.

b) Conradi-Drigalskischer Lackmusagar.

500 ccm des mit Ringerscher Lösung hergestellten Agars wurden versetzt mit 5 g Nutrose und abermals sterilisiert. Sodann kamen hinzu: 75 ccm Lackmustinktur, 15 g Milchzucker, 10-proz. Sodalösung bis zur deutlichen Blaufärbung des Schaumes, 5 ccm 0,1-proz. wässeriger Kristallviolettlösung. Dieser Nährboden wurde zu Platten ausgegossen, die Platten mit Typhus, Paratyphus B und Coli beimpft.

Während auf dem Fleischextrakt Conradi-Drigalski-Agar die einzelnen Stämme typisch und üppig wuchsen, gediehen auf dem mit Pfeiler und Lentzschem Agar hergestellten Nährboden Typhus und Paratyphus B. nur ganz spärlich. Bact. coli wuchs kräftig und deutlich rot.

c) Löfflers Malachitgrün-Agar (zur Anreicherung nach Lentz und Tietze.)

500 ccm des aus Ringerscher Lösung bereiteten Agars mußten mit 0,5 ccm Normal NaOH versetzt werden, um die Reaktion desselben auf 1 Proz. Normal NaOH unter dem Phenolphthalein-Neutralpunkt zu bringen.

Bei dem Fleischextraktagar waren dazu 1,1 ccm nötig.

Beide Nährböden wurden darauf versetzt mit je 2,75 ccm einer 0,5-proz. alkoholischen Malachitgrünlösung tüchtig gemischt und zu Platten ausgegossen.

Das Wachstum auf dem Fleischextrakt Malachitgrünagar war normal; d. h. Typhus wuchs ungehemmt, Paratyphus üppig unter Entfärbung des Farbstoffes, ein Colistamm wuchs ebenfalls ungehemmt (bei einer Reihe von Stämmen ist das oft zu beobachten), ein weiterer Stamm wuchs nicht.

Auf dem neuen Malachitgrünagar waren Typhus und Paratyphus sehr schlecht gewachsen, dabei hatte der Paratyphus den Nährboden nicht entfärbt; vielmehr hatte er den grünen Farbstoff angezogen. Das Wachstum der beiden Coli-Stämme unterschied sich nicht von dem auf Fleischextrakt-Malachitgrünagar.

Die Herren Pfeiler und Lentz hatten die Liebenswürdigkeit, mir eine Reihe von Schrägagarkulturen verschiedener Bakterienstämme zu übersenden. Diese mehrere Tage alten Stämme zeigen im Prinzip das gleiche Verhalten wie die in vorstehender Arbeit erwähnten. Die pathogenen Stämme: Typhus, Paratyphus A, Paratyphus B, Dysenterie wuchsen als zarter Belag — für uns im Vergleich zum Fleischextraktagar sehr schlecht. Die apathogenen Stämme: Prodigiosus, Staphylococus citreus, Sarcina orange, Micrococcus roseus hatten sehr ausgeprägte schöne Farbstoffe gebildet und waren gut gewachsen. Doch waren, wie oben erwähnt, die Kulturen mehrere Tage (ca. 14 Tage) alt. Selbst wenn ich gern glaube, daß die Farbstoffbildung schon früher eingetreten war, scheinen die mir von Pfeiler und Lentz übersandten Kulturen zu erweisen, daß (da das Wachstum der pathogenen Stämme erheblich schlechter ist als das der apathogenen) der fleischlose Pfeiler und Lentzsche Agar für allgemeine Zwecke sich nicht eignet.

Ergebnis der Untersuchungen.

Auf dem von Pfeiler und Lentz empfohlenen Agar, in dem das bisher bei Nährböden übliche Fleischwasser durch die Ringersche Lösung ersetzt ist, wachsen die pathogenen Bakterien viel schlechter als auf Fleischextraktagar, einige Arten gedeihen überhaupt nicht. Die Farbstoffbildung ist wesentlich herabgesetzt.

Zu den Spezialnährböden nach Endo, nach Conradi-Drigalski und nach Löffler eignet sich der von Pfeiler und Lentz angegebene Agar nicht, da das Wachstum der Typhusbacillen zu spärlich ist.

Als „Nährboden“ für allgemeine Zwecke in bakteriologischen Instituten eignet sich der Agar nach Pfeiler und Lentz nicht.

Inhalt.

Emmerich, R. u. **Loew, O.**, Die Bakterizidie der Pyocyanase. Eine Zurückweisung der Abhandlung Isabolinskys, p. 95.
Eymer, H., Ist der Tetanusbacillus grampositiv, p. 1.
Grote, L. R., Ueber die praktische Verwertbarkeit der Säureagglutination nach Michaelis, p. 98.
Kodama, H. u. **Krasnogorski, N.**, Bakteriologische Befunde bei Erkrankungen der extrarenalen Harnwege bei Kindern und Erwachsenen, p. 8.
Messerschmidt, Th., Was leisten die von W. Pfeiler und W. Lentz angegebenen Nährböden in der Praxis, p. 107.
Mühlens, Bericht über eine Malariaexpedition nach Jerusalem, p. 41.
Poleff, L., Ueber den Bordet-Gengouschen Keuchhustenbacillus, p. 23.
Sangiorgi, G. u. **Bongioannini, G.**, Eine Bacillenruhrseuche in Piemont, p. 37.
Scordo, Francesco, Die Leukocyten des Meerschweinchens und des Kaninchens in Kontakt mit den Flagellatenformen der Leishmania Donovani in vitro und im Körper der Tiere, p. 85.
Shiga, K., Imai, N. u. **Eguchi, Ch.**, Eine Modifikation von Bordet-Gengous Nährboden für die Keuchhustenbacillen nebst einigen Ergebnissen in serologischer Beziehung, p. 104.
Skrjabin, K. I., Tracheophilus sisowi n. g. n. sp. Ein Beitrag zur Systematik der Gattung Typhlocoelum Stossich und der verwandten Formen, p. 90.
Tizzoni, G. u. **De Angelis, G.**, Studien über die Biologie und die Morphologie des pleomorphen Streptobacillus der Pellagra, p. 5.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits hergestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 69. Heft 3.
Ausgegeben am 23. Mai 1913.

Nachdruck verboten.

Zur Dysenterie der Irrenanstalten.

[Aus der Heil- und Pflegeanstalt zu Düren, Direktor: Geheimer Sanitätsrat Dr. Fabricius.]

Von Dr. **Friedrich H. Lorentz.**

In den meisten unserer Irrenanstalten werden schon seit langer Zeit fieberhafte Darmerkrankungen mit blutig-schleimigen Durchfällen beobachtet. Es existiert hierüber eine reichliche Literatur, die festgestellt hat, daß diese Erkrankung von einem Bakterium der Coli-Gruppe hervorgerufen wird, und daß dieses Bakterium in verschiedene Stämme zerfällt, die man unter dem Begriff der Dysenterie zusammenfaßt und der Amöbendysenterie gegenüberstellt. Diese Krankheit entspricht in allen ihren wesentlichen Punkten der seit vielen Jahren bekannten Ruhr, und Hawkins hat dieselbe direkt als in die Irrenanstalten versprengte Ueberbleibsel der Ruhrepidemieen des Mittelalters bezeichnet.

Vielfach wird der Dysenterie in den Irrenanstalten noch nicht die nötige Bedeutung zugemessen. Es schlüpft da vieles mit der Diagnose „fieberhafter Magendarmkatarrh" durch, was sich bei näherer Hinsicht als ein Dysenteriefall erweisen würde[1]). Wenn dann erst unter gegebenen Umständen die Krankheit zur Epidemie aufflackert und mit Todesfällen ihr wahres Gesicht zeigt, geht man ihrer lokalen Entstehung und Verbreitung nach. Neisser hat an 134 Irrenanstalten des deutschen Sprachgebiets Fragebogen versandt und von über 50 Anstalten die Nachricht zurückerhalten, daß an ihnen niemals etwas von Typhus oder Ruhr beobachtet worden sei. Hierbei sind anscheinend Alter und Größe der Anstalt nicht in Berücksichtigung gezogen, und ich stehe dieser Zahl 50 darum skeptisch gegenüber. Man kann ruhig annehmen, daß in jeder größeren Anstalt, die eine entsprechende Entwicklungszeit hinter sich hat, Ruhrfälle erkannt oder unanerkannt vorkommen. Ich zitiere hierfür folgenden Passus, den ich in dem rheinischen Jahresbericht von 1900/01 finde: „Im Berichtsjahre traten in Bonn, Düren und Grafenberg Erkrankungen der Verdauungsorgane in größerer Anhäufung auf, von denen die zu Grafenberg zur Beobachtung gekommenen 21 Fälle klinisch und bakteriologisch sich als echte Ruhr charakterisierten, 8 Todesfälle aufwiesen und auf nachweisbarer Einschleppung von außen beruhten, während die Fälle in Bonn mehr unbestimmte, ruhrähnliche Erscheinungen und massenhaftes Auftreten bei etwa 100 Männern und 200 Frauen zeigten, vorwiegend Sieche und Schwache befielen und eine Einschleppung sich nicht nachweisen ließ. In Düren mußte die vorliegende Erkrankung bei 52 Kranken und 13 Angestellen als Magendarmkatarrh, vielfach mit hohem Fieber, gedeutet werden ohne nachweisbaren exogenen Ursprung."

Auch aus dem Auftreten der Ruhr an unserer Anstalt geht hervor, daß die Bakteriendysenterie als eine Infektionskrankheit zu betrachten ist, die unter Umständen einen ernsten Epidemiecharakter annehmen

1) Siehe Jahresber. üb. d. Provinzial-Heil- u. Pflegeanst. d. Rheinprov. 1898—1912.

kann. Dies zeigt uns ein kurzer Rückblick auf ihren Verlauf während der Jahre 1910 und 1911.

Schon vor diesen Jahren sind bei uns Ruhrfälle vorgekommen. Dieselben traten aber immer anscheinend nur einzeln und in abgeschwächter Form auf. Erst mit dem Jahr 1910 gewann die Sache an Ausdehnung und Ernst. In diesem Jahre erkrankten 24 Frauen auf der Frauenseite. Im April und ganz besonders im August ist eine Häufung der Fälle festzustellen. Namentlich als in dieser Zeit die Krankheit auch auf die Siechenstation übergreift und sich zahlreiche Todesfälle hinzugesellen, ist dies der Fall. Es starben 9 von den 24 erkrankten Frauen, und diese 9 Todesfälle fallen fast sämtlich auf die Siechenstation. Das bestätigt die von Kolle-Hetsch schon fixierte Beobachtung, daß die Dysenterie geschwächten, siechen Individuen gefährlich wird.

Im Jahre 1911 nahm die Zahl der Erkrankungen der Frauenseite noch etwas zu. Diesmal waren es 26 Patientinnen, die die Erscheinungen eines fieberhaften Darmkatarrhs aufwiesen, und wiederum lag die Hauptzahl der Fälle im August. Die Zahl der Todesfälle ging auf 3 zurück (davon 2 im August). Der Tod hatte im Jahre 1910 anscheinend schon das Feld gelichtet. Die Erkrankungen kamen in Verlauf beider Jahre auf allen Häusern der Frauenabteilung vor.

Die Stuhluntersuchungen wurden in den Jahren 1910 und 1911 von dem Medizinaluntersuchungsamt in Düsseldorf vorgenommen, und zu diesem Zweck die Stühle immer nach dort übersandt. Auf das Jahr 1910 kamen 5 positive und auf das Jahr 1911 7 positive Stühle. Das sind kleine Zahlen, die aber in der räumlichen und zeitlichen Entfernung sowie in einem noch später zur Aufklärung gelangenden Umstand ihren Grund finden. Auch das mitunter nach dort übersandte Patientenserum ergab, soweit ich in den Journalen verfolgen konnte, jedesmal einen positiven Widal.

Auf der Männerseite traten die Erkrankungen nicht mit der gleichen Heftigkeit auf. Sie blieben dafür aber um so konstanter, weil hier der eigentliche Infektionsherd zu suchen ist. Im Jahre 1909 findet sich unter einer beschränkten Anzahl von Ruhrerkrankungen 1 Todesfall. Auf 1910 fällt wiederum nur 1 Todesfall bei ebenfalls nur vereinzelt vorkommenden Erkrankungen. Erst im Jahre 1911 trat auch hier die Dysenterie unter epidemieartiger Ausbreitung auf. Es erkrankten 48 Patienten, bei denen in Düsseldorf 8mal Dysenteriebacillen aus dem Stuhl nachgewiesen werden konnten.

Von diesen 48 Patienten starben 4. Wiederum war auch hier der August die schlimmste Zeit. In ihn allein fielen 25 Fälle und in den September anschließend weitere 12 Fälle. Während die übrigen Fälle sich tropfenweise über das Jahr verteilen (nur im April ist noch eine kleinere Häufung festzustellen), war die Ausbreitung auf den August und September folgendermaßen angeordnet:

Es erkrankten am:

15.	August	5	Patienten	31.	August	1	Patienten
18.	„	3	„	2.	September	1	„
21.	„	1	„	4.	„	2	„
24.	„	4	„	7.	„	2	„
25.	„	2	„	8.	„	2	„
26.	„	1	„	9.	„	1	„
27.	„	1	„	10.	„	1	„
28.	„	2	„	20.	„	1	„
29.	„	4	„	24.	„	2	„
30.	„	1	„				

Die vorstehende Tabelle zeigt, daß wir es hier mit einer typischen epidemiologischen Ausbreitung zu tun haben, wie sie schon wiederholt beobachtet und beschrieben worden ist. Man kann annehmen, daß der heiße Sommer des Jahres 1911 sehr begünstigend auf die Ausbreitung der Krankheit einwirkte. Wo kommt aber dieselbe her?

Aus meinen späteren Ausführungen wird, übereinstimmend mit Lentz, hervorgehen, daß die Feststellungen des Herdes einer Dysenterieepidemie mitunter recht schwer, wenn nicht unmöglich ist. Liegen erst noch Zeiträume dazwischen, so kommt man über Vermutungen gar nicht hinaus. Diese Vermutungen deuten hier darauf hin, daß die Herde unserer Epidemieen auf der Männerseite lagen, denn hier ließen sich allein Chronischruhrkranke feststellen. Die Ausbreitung fand dann durch Einschleppung auf einzelne Patienten der verschiedenen Häuser und der Frauenseite statt. Wie auf der Frauenseite so betrafen auch bei den Männern die Ruhrfälle alle Häuser der Abteilung, ja auf dem räumlich von der übrigen Anstalt vollständig getrennten Bewahrungshaus kam 1 Fall mit positivem Stuhlbefund vor.

Im November 1911 war nun inzwischen in der Anstalt selbst ein eigenes Laboratorium eingerichtet worden und die ganze Anstalt wurde von Herrn Dr. Lenneper durchuntersucht. Diese Durchuntersuchungen hatten den Erfolg, daß auf der Frauenseite 3 gesunde Patientinnen und auf der Männerseite 1 gesunder Pfleger als sogenannte Bacillenträger gefunden wurden. Von jetzt ab konnten auch alle Erkrankten unter eine scharfe bakteriologische Kontrolle genommen werden.

Es bleibt mir noch übrig, etwas über den seitherigen klinischen Verlauf zu sagen. In den Krankenjournalen finden sich fast regelmäßig Angaben über Fieber und Durchfälle. Auch die Blutbeimengung fehlt selten. Leibschmerzen und Benommenheit treten in den Hintergrund und Angaben über Tenesmus, Anusprolaps, Nerven- und Zirkulationsstörungen fehlen. Je nach Konstitution und Alter wechselt das klinische Bild, mitunter fallen periodische Schwankungen in der Form der Fieberkurve auf.

Mit Sicherheit geht aus dem Verlauf der Dysenterie in den Jahren 1910 und 1911 das Folgende hervor:

Die hier vorliegende Bacillendysenterie ist als eine Infektionskrankheit zu betrachten, die alten geschwächten Individuen gegenüber einen gefährlichen Charakter annimmt. Ihre Mortalität steigt 1910 auf der Frauenseite zu dem hohen Satz von 37 Proz. an. Ihre Ausbreitung wird von der heißen Jahreszeit begünstigt. Ihr Einführungs- und Ausbreitungsweg ist nicht mehr genau festzustellen.

Seit März 1912 habe ich selbst die beiden Ruhrstationen unserer Anstalt übernommen und auch die Laboratoriumsuntersuchungen ausgeführt. Alle meine weiteren Mitteilungen beziehen sich auf den damit beginnenden Zeitabschnitt. Da, wo ich auf früher zurückliegende Daten Bezug nehmen muß, wird dasselbe jedesmal ausdrücklich angeführt.

Die Frauenruhrstation war schon seither auf einer Isolierbaracke untergebracht, während sich die Männerruhrstation auf einer Abteilung des Hauses 3 befand, die Zusammenhang und Verkehr mit den übrigen 3 Abteilungen des Hauses hatte. Wir brachten diese Abteilung auf einen vollständig abgetrennten Flügel des Hauses 4, der einen separaten und außerhalb des Umfassungsringes der Anstalt liegenden Eingang besaß.

Wenn damit auch eine Isolierung erreicht war, so ist diese Unterkunft doch in keiner Weise als ein Idealzustand anzusehen, weil für alle in Betracht kommenden Patienten nur 1 großer Saal mit 3 auf denselben einmündenden Einzelzimmern sowie 1 Tagesraum zur Verfügung stand. Daß eine Isolierbaracke nur ein vorübergehender Aus- und Notbehelf sein kann, ist selbstverständlich.

Die Baracke war durchschnittlich mit 10 Patientinnen belegt. Auf der Männerruhrstation betrug die Durchschnittszahl 32. Es kamen auf der Frauenseite unter meiner Beobachtung nur noch 7 Erkrankungen vor. 5 davon waren Wiedererkrankungen von Patientinnen, die bereits auf der Baracke lagen. Alle Fälle traten vereinzelt auf; ein Todesfall kam nicht mehr vor. Die letzte Erkrankung fiel auf den 30. Juli 1912. Seitdem, also ein halbes Jahr, wurde auf der Frauenseite auch nicht das geringste von Dysenterie beobachtet [1]).

Auf der Männerseite kamen die Erkrankungen in folgender Anordnung vor:

März:	8. (R.-St.)	18. (R.-St.)	30. (R.-St.)		
April:	2. (R.-St.)	24. (R.-St.)			
Mai:	13. (R.-St.)	13. (R.-St.)	17. (R.-St.)	28. (R.-St.)	31. (R. St.)
Juni:	[2. (2a)]	[3. (2a)]	11. (R.-St.)	11. (R.-St.)	18. (R.-St.)
Juli:	11. (R.-St.)	[21. (2a)]	[27. (3c)]		
August:	[5. (3a)]	[6. (4a)]	6. (R.-St.)	9. (R.-St.)	20. (R.-St.)
September:	[1. (2a)]				
Oktober:	[3. (2a)]	9. (R.-St.)	17. (R.-St.)		
November:	[22. (4a)]	30. (R.-St.)			
Dezember:	8. (R.-St.)	30. (R.-St.)			
Januar:	2. (R.-St.)	[5. (2a)]	12. (R.-St.)	13. (R.-St.)	14. (R.-St.)

In vorstehender Tabelle ist unter R.-St. die Ruhrstation verstanden. Die in den Klammern angeführten Zahlen mit beigefügtem Buchstaben bedeuten das Haus mit dem Buchstaben der Station.

Es sind in der Tabelle 36 Erkrankungen aufgeführt. 26 davon fallen auf die Ruhrstation und 10 außerhalb derselben. Das fortwährende Aufflackern und Rezidivieren auf der Ruhrstation selbst ist für die Entstehung und Ausbreitung der Epidemie nicht in Berücksichtigung zu ziehen. Es ist nur oft mit der Einlieferung neuer Ruhrkranker verbunden, deckt damit den Hauptmangel der Ruhrstation auf und liefert Beobachtungsstoff für die Kontagiosität der Dysenterie.

Epidemiologisch wichtig sind vor allem die 10 Neuerkrankungen. Ueber 3 Monate war in der Anstalt alles ruhig geblieben, nur auf der Ruhrstation sorgten die Chronischruhrkranken für das Nichterlöschen der Ruhr. Da erkrankt auf der Siechenstation, die auch 1911 den Hauptherd bildete, am 2. Juni Patient Bu. und wird als Chronischruhrkranker ermittelt (in Tabelle doppelt umrahmt). Sein Bettnachbar erkrankt am 3. Juni und stirbt nach einigen Tagen an Ruhr. Ich habe in der Tabelle alle weiteren Neuerkrankungen umrahmt, weil man an ihnen sehr schön verfolgen kann, wie sich die Krankheit weiter ausbreitet. 5 Fälle kommen von 2a, und da, wo die Fälle auf andere Stationen überspringen, hatten vorher Patientenverlegungen stattgefunden. Damit bietet die Tabelle ein

1) Cf. am Schluß neue Ruhrfälle auf der Frauenseite.

Bild im Kleinen, wie wohl die Entstehung und Ausbreitung auch der Vorjahre gewesen sein mag.

Todesfälle hatte ich noch 4 zu verzeichnen.

Es steht demnach von der kleinen Epidemie des Jahres 1912 fest, daß sie einem Chronischruhrkranken ihre Entstehung verdankt, und daß sie von der Siechenstation (2a) aus ihre Verbreitung fand. Für beides war auch diesmal die heiße Jahreszeit begünstigend.

Schon bei dem epidemiologischen Entwickelungsgang habe ich die klinischen Symptome gestreift. Dasselbe, was dort gefunden wurde, konnte auch ich immer wieder bei meinen Fällen beobachten. Fieber, Durchfall mit Schleimbeimengung und frische Blutungen aus dem Enddarm waren die Kardinalpunkte, aus denen sich das Krankheitsbild aufbaute. Wenn diese drei in sich auch großen Schwankungen unterworfen waren, so fehlte doch nur äußerst selten einmal eines von ihnen, und man kann sagen, sie boten ein so abgeschlossenes klinisches Bild, daß nicht leicht eine Verwechslung mit einer anderen Krankheit eintreten konnte.

An 2 Fällen konnte ich beobachten, daß 8—9 Tage nach der Einlieferung eines Neuerkrankten auf der Ruhrstation die Bettnachbarn erkrankten. Dies kann bestimmend für den beginnenden Abschluß der Inkubationszeit, über die im Lehrbuch von Kolle und Hetsch nichts angegeben ist, angesehen werden[1]).

Das Fieber war das konstanteste der klinischen Hauptsymptome. Es fehlte bei keinem Fall, und wenn es auch nur eine leichte Steigerung über 37 ° C (Achselmessung) war. In vielen Fällen, besonders bei körperlich reduzierten Patienten, stieg es hoch an und ging über 39 °, in einigen sogar über 40° C hinaus. Es setzte mit den anderen klinischen Symptomen akut ein, war manchmal nur wenige Tage (4mal nur 1 Tag) und ein anderes Mal auch wieder über Wochen vorhanden. Gewöhnlich ein starker Anstieg am 1. Tag und dann ein fast ebenso rascher Abfall in 1—2 Tagen. Es waren Tagesschwankungen von über 2 ° da, und man konnte bei den langen Fieberkurven ein über einige Tage gehendes periodisch-regelmäßiges Auf- und Abschwanken der ganzen Fieberkurve gelegentlich feststellen.

Der Durchfall war ebenfalls fast immer vertreten. Namentlich bei allen akuten Fällen ist er als regelmäßig zu bezeichnen. Bei zwei schon länger Erkrankten fand ich positive Stühle mit Blutbeimengung, die gebunden waren. Die Durchfälle bestanden neben dünnem, gelblichem Kot aus reichlichen Schleimbeimengungen, die mehr oder minder innig mit dem kotigen Anteil des Stuhles verbunden waren. Oft bildete der Schleim den einzigen Stuhlbestandteil. Kleinere Stückchen Darmschleimhaut habe ich in den Ausscheidungen wiederholt angetroffen. Gewöhnlich fanden die Darmausscheidungen häufig und in geringen Mengen statt.

Die Darmblutungen sind im Verein mit dem Vorhergehenden für die Krankheit außerordentlich charakteristisch. Sie erfolgen aus den untersten Darmabschnitten und sind darum frisch-hellrot und mit dem übrigen Teile des Stuhles nicht innig verbunden. Ich habe Stühle gesehen, bei denen gewissermaßen noch nachträglich ein paar Blutspritzer oben aufgesetzt waren. Man darf nicht erwarten, daß in allen Durchfällen

1) Cf. am Schluß Neuerkrankungen der Frauenseite.

eines Patienten Blut zu finden war, denn die Blutungen fanden manchmal auch unabhängig vom Stuhlgang statt und beschmutzten dann die Bettwäsche, andererseits konnte auch der Reiz des Stuhlgangs nicht immer den Darm zum Bluten bringen.

4mal fehlten die Blutungen im Verlauf der ganzen Erkrankung. 2 davon waren Rezidive, 1 Fall stellte sich post mortem erst als Dysenterie sicher, und 1 Fall war eine Tuberkulose. Der letztere ist in meiner Tabelle natürlich nicht enthalten, ich muß ihn aber verschiedene Male noch zu meinen Untersuchungen heranziehen, weil er einerseits 2 Monate auf der Ruhrstation lag und dort auch starb, und weil er ferner für die Abgrenzung der Diagnose wichtige Befunde bot.

Die übrigen von anderen Autoren beschriebenen klinischen Symptome blieben im Hintergrund. Ueber Leibschmerzen wurde vereinzelt geklagt, sie waren nie so heftig, daß Koliken oder Anusprolaps entstanden wären. Nerven- oder Zirkulationsstörungen wurden ebenfalls nicht beobachtet; das entspricht der geringen Pathogenität und Giftbildung der hier vorliegenden Dysenteriestämme. Deshalb kam auch Benommenheit nur bei den schweren Erkrankungen und in gemäßigter Form vor.

Der Grad der Erkrankungen war ein sehr verschiedener. Kräftige Individuen blieben von ihr ganz verschont, konstitutionell schwächere erkrankten nur kurz und leicht, marantische starben oder genasen nach schwerer Erkrankung nur sehr langsam. Damit war die Siechenstation (2a) am meisten für die Krankheit prädestiniert. Im Jahre 1910 waren von den 9 Dysenterieverstorbenen der Frauenseite allein 6 70 und mehr Jahre alt. Das Alter meiner Todesfälle betrug 75, 73, 56 und 47 (Paralytiker) Jahre. Das Alter meiner erkrankten Männer schwankt zwischen 28 und 77 Jahren und verteilt sich auf die einzelnen Lebensabschnitte:

21. bis 30. Jahr:	3	51. bis 60. Jahr:	6
31. „ 40. „	7	61. „ 70. „	6
41. „ 50. „	8	71. „ 80. „	6

Man sieht, daß sich die Erkrankung nicht an das Alter an und für sich hält. Wenn die hohen Altersklassen reichlich vertreten sind, so liegt das nur daran, daß hier der marantische Zustand öfters angetroffen wird. Der konstitutionell schwächliche junge Patient wurde von unserer Ruhr nicht geschont, das beweist obige Alterstabelle und der Tod eines 30-jährigen Patienten aus der Epidemie des Jahres 1911.

Ich führe noch zwei weitere Argumente für das Vorstehende an. Von dem Pflegepersonal erkrankte während der Jahre 1910/12 auf der Männerseite überhaupt niemand und auf der Frauenseite nur eine schwächliche Pflegerin. Dabei muß man bedenken, wie nahe das Pflegepersonal mit den gewöhnlich unreinen und schmierenden Patienten zusammen kam. Weiter war es auffallend, daß in der ausgebreiteten Epidemie des Jahres 1911 unter den durchschnittlich kräftigen Männern des Bewahrungshauses nur 1 Ruhrfall auftrat.

Ein bestimmtes Verhältnis zur psychischen Erkrankung konnte nicht beobachtet werden. Unter den Jugendlichen befanden sich viel Katatone; und dann waren die meisten Patienten unrein nnd hantierten mit den Händen am Anus herum. Das brachte mich auf den Gedanken, ob nicht die Ansteckung oft digital durch den Anus erfolgte. Dafür spräche noch, daß sich die Ruhr zuerst in den untersten Dickdarmabschnitten festsetzt und von dort darmaufwärts weiterverbreitet. Daß die Erkran-

kung stomachal erfolgen kann, beweist das Verfütterungsexperiment des Todeskandidaten (s. Aschoff).

Zusammenfassend ergibt der klinische Verlauf der hier vorliegenden Dysenterie:

Die Dysenterie befällt nur konstitutionell Schwache und wird Marantischen gefährlich. Sie besitzt geringe Giftbildung.

Der Grad der Erkrankung kann je nach der Konstitution des Patienten in seinen klinischen Symptomen sehr wechselnd sein.

Durch die letzteren ist jedoch die Diagnose gesichert.

Es hat darum auf sie allein hin sofortige behördliche Anzeige zu erfolgen.

Die Laboratoriumsuntersuchungen waren auf den Stuhl und Widal beschränkt. Ich habe im Anschluß an den Widal einige Kulturversuche mit Patientenblut angestellt und dabei auch mit Anreicherungen experimentiert; sie blieben vollständig negativ. Dasselbe war mit Urinausstrichen auf Drigalski der Fall. Ich berufe mich ferner auf die einschlägige Literatur, die hiermit übereinstimmend festgestellt hat, daß nur Widal und Stuhluntersuchungen in Betracht kommen.

Der Widal wurde gewöhnlich erst nach dem 10. Erkrankungstag vorgenommen. Er war bei allen Erkrankten positiv, meist hoch bis 1:320 und 1:640. Bei einer Anzahl Patienten habe ich den Widal weiter kontrolliert. Er wurde nach der Genesung schwächer und war einige Wochen später negativ. Bei 3 Chronischruhrkranken war er auch im freien Intervall positiv. Bei meinem Tuberkulosefall war er ebenfalls bis 1:640 positiv. Dieser aberrante Befund kann nicht in Erstaunen setzen, denn es ist bekannt, daß auf der Höhe einer fieberhaften Bakterienkrankheit das Serum öfters auch ganz artfremde Bakterien agglutiniert. Deshalb bedeutet doch der Widal in den Fällen, wo in dem klinischen Bild eine Lücke ist und die Stuhluntersuchung negativ blieb, einen sehr wichtigen Hinweis. Wenn auch nicht bei allen Chronischruhrkranken der Widal im freien Intervall positiv war, so war er doch eine gute Kontrolle für dieselben. Er steht natürlich an Wert gegenüber der Stuhluntersuchung zurück, denn dieselbe ist, wenn positiv, absolut sicher und kann und muß sich sogar dem ersten Erkrankungstag sofort anschließen. Es kommt darum im Laboratorium alles auf die Stuhluntersuchung an, und wir müssen dieselbe so gestalten, daß wir keine Komponente auslassen, die einen positiven Ausfall ermöglicht.

Von den 7 erkrankten Frauen konnten 6mal Dysenteriebacillen aus dem Stuhl nachgewiesen werden. Bei den 27 erkrankten Männern (die Rezidive sind abgerechnet) war dies 20mal der Fall. Diese Verhältniszahlen sind bei anderen Autoren bedeutend niedriger, und ihre Höhe fällt auch namentlich den in den Jahren 1910 und 1911 in Düsseldorf gefundenen positiven Resultaten gegenüber auf. Ich glaube, daß, wenn ich schon gleich zu Beginn meiner Tätigkeit dieselbe Erfahrung gehabt hätte, ich auch auf der Männerseite noch eine höhere Zahl der positiven Stühle erreicht hätte.

Meine hohen Prozentsätze wurden durch folgendes Vorgehen erreicht. Sobald eine dysenterieverdächtige Erkrankung bemerkt war, wurde sofort der Stuhl in das Laboratorium geschickt und dort ohne

Verzug ausgestrichen. Dies wurde in den folgenden Tagen jedesmal wiederholt (solange ein klinischer Befund noch vorhanden war), bis der Stuhl positiv war. War dies auch nicht während der Erkrankung der Fall, so blieb der Patient auf der Ruhrstation liegen und schloß sich den monatlichen Durchuntersuchungen an. War jemand auf einer Abteilung an nachgewiesener Ruhr erkrankt, so wurde die ganze Abteilung gesperrt und erst nach ihrer vollständigen bakteriologischen Durchuntersuchung wieder geöffnet. Wenn bei letzterem auch die Resultate im Verhältnis zur aufgewendeten Arbeit der Zahl nach gering waren, so wogen sie um so mehr in ihrer Bewertung. Unter rund 800 Stuhluntersuchungen fand sich als einziger der schon mitgeteilte Pfleger von 2a der aber damit den Verbreitungsweg sicherstellte. Es ist gewiß, daß bei der Schwierigkeit des Bacillennachweises die meisten bacillenausscheidenden Zwischenträger durchschlüpfen. Ich halte darum diese Durchuntersuchungen der Abteilung in ihrer Wirkung als Bekämpfungsmaßregel für zwecklos.

Bei den meisten positiven Stuhluntersuchungen ergab sich schon bei der ersten Untersuchung ein positiver Befund. Dies wurde nur durch die kurze Zeit erreicht, die zwischen der Stuhlproduktion des Patienten und der Kulturanlage verstrichen war. 4mal kam es vor, daß erst bei einer der nachfolgenden Tagesuntersuchungen ein positiver Stuhlbefund eintrat. 2mal war dasselbe Resultat erst bei der monatlichen Nachuntersuchung zu konstatieren. Wenn hierbei auch schon mehr wie 2 Monate seit dem Verschwinden der klinischen Symptome vergangen waren, so bringe ich diesen Befund doch direkt mit der Erkrankung in Verbindung. Ich muß bemerken, daß einer der beiden letzten Fälle von Herrn Dr. Lenneper festgestellt wurde.

Bei 7 Patienten konnten trotz alledem keine Bacillen nachgewiesen werden. Ein Teil hiervon fällt in den Beginn meiner Tätigkeit, seitdem ich mich aber bemüht habe, den Stuhl sofort bei der Erkrankung zu erhalten und ohne Zeitverlust auszustreichen, sind diese Fälle noch seltener geworden. Immerhin gibt es ganz sichere Ruhrfälle, bei denen es trotzdem nicht gelingen wird, Bacillen nachzuweisen. Für diese sprechen 2 Beobachtungen.

Bei einer der monatlichen Durchuntersuchungen wurde unvermittelt ein positiver Stuhl gefunden. Am nächsten Tage erkrankt der betreffende Patient unter den bekannten Symptomen. Es werden sofort und an jedem weiteren Tag der Erkrankung Stuhluntersuchungen vorgenommen, dieselben bleiben alle negativ. Zweitens unter meinen 4 Todesfällen befinden sich 2 mit pathologischem Dysenteriebefund, bei denen in vivo niemals Bacillen gezüchtet werden konnten. Der eine Patient O. ist ein alter Chronischruhrkranker, der allein unter meiner Beobachtungszeit 3mal erkrankt ist. Der andere starb im Gegensatz zu dem vorigen an seiner Dysenterie mit einem hochgradig vorgeschrittenen Darmbefund. Sowohl die zahlreichen Stuhluntersuchungen während der Krankheit als die Entnahmen bei der Sektion blieben alle negativ. Ich führe ferner noch die Tatsache an, daß bei diesen negativen Stühlen dieselben entweder gar kein oder nur wenig Blut enthielten. Das entspräche der Ansicht, daß die Geschwüre die Brutstätten der Bakterien sind, aus denen das Blut dann dieselben herausschwemmt.

Es bleibt noch die Frage offen, wie lange die Patienten in ihren Fäkalien Ruhrbacillen ausscheiden. Für gewöhnlich fällt dies mit den ersten Tagen der klinischen Erkrankung zusammen. Es waren recht

viel Fälle da, bei denen nur der Stuhl des ersten Erkrankungstags positiv war, vor allem war dies bei den leichten Erkrankungen der Fall. Bei den Schwerkranken blieben die Bacillen entsprechend dem Fieber und den Blutungen länger im Stuhl, ich habe einen Patienten, bei dem sie nach 1 Monat, und einen anderen Patienten, bei dem sie sogar noch nach 2 Monaten nachgewiesen wurden.

Als Nährboden hat sich der Drigalski ausgezeichnet bewährt. Die Dysenteriebacillen wuchsen auf ihm am besten, wenn er ganz leicht alkalisch etwas zu blau gefärbt war. Einige Platten stellten sich im ersten Ausstrich als Reinkulturen dar, auf welchen nur Dysenterie-Kolonieen gewachsen waren. Dies blieb auch so bei längerem Aufbewahren dieser Platten.

Schon Aussehen, Wachstum und Geruch der Kolonieen ließ ihren bakteriellen Charakter erkennen. Dieselben waren:

Nach 24 Stunden zart gewachsen i. D. zirka 1—2 mm und damit gewöhnlich hinter den Coli bedeutend zurück. Im durchfallenden Licht tautropfen-ähnlich (nie auch noch so leicht rötlich schimmernd), im auffallenden mit einem leichten zentralen weißlichen Schimmer. Sie ließen den Nährboden unverändert und erschienen damit dem Coli gegenüber blau. Vor allen Dingen war aber im Gegensatz zu Kolle-Hetsch ihr Rand gatt, rund und flach und nicht wie bei Typhus weinblattartig gezackt.

Nach 48 Stunden waren die Dysenteriekolonieen erst auf 2—4 mm gewachsen und damit noch mehr hinter den Coli zurückgeblieben. Sie sahen im auffallenden Licht mehr milchig aus, und ihr Zentrum war noch etwas deutlicher gegen die flacheren Ränder verdickt. In ihrer Umgebung machte sich jetzt auch mitunter eine leichte Blaufärbung des Nährbodens bemerkbar, die jedoch nie sehr deutlich wurde, weil ich wegen der Wachstumsförderung einen leicht alkalischen Drigalski benutzte.

Nach 72 Stunden keine wesentliche Aenderung mehr. Nur bei einigen Stämmen trat von jetzt ab ein gezackter Rand und stärkere Milchtrübung bei weiterem Wachstum auf.

Auf Agarplatten war das Wachstum der Kolonieen noch zarter. Ich habe schon erwähnt, daß in einigen Fällen die Drigalski-Platten nur Dysenteriekolonieen wachsen ließen. In den meisten waren die Dysenterie den Coli gegenüber dominierend, bei anderen war es auch wieder so, daß unter reichlichen Coli nur wenige Dysenterie gewachsen waren. Ich brauche wohl kaum mitzuteilen, daß es sich hier nur um Ausstriche handelt, die mit demselben Spatel auf 2. und 3. Platten gemacht waren.

Nach dem vorstehenden ist also eine Verwechslung der Dysenteriekolonieen nicht leicht möglich. Vor allen Dingen grenzen sie sich gegen den Typhus mit seinen gezackten Rändern, seinem oft trocken metallischem Schimmer im Aufblick der etwas älteren Kolonien und mit seinem intensiveren Wachstum scharf ab. Und damit möchte ich nochmals als Hauptcharakteristika der Dysenteriekolonieen ihr zartes, reduziertes, durchsichtiges Wachstum, ihren glatten runden Rand, ihren unveränderten Drigalski sowie ihren Spermageruch, der oft sehr intensiv war, bezeichnen.

Wenn demnach die Diagnose nach dem Aussehen der Kolonie auf Drigalski schon zu stellen war, so hatte noch die Differenzierung und damit gleichzeitige Bestätigung stattzufinden. Hierzu wurde die Agglutination und die Verimpfung auf Zuckernährböden angewandt. Außer einem Fall konnte die Agglutination alle nach Aussehen und Wachstum der Kolonie gestellten Diagnosen bestätigen. Wir

arbeiteten mit den von dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin bezogenen Seren: Flexner, Y und Kruse. Flexner-Agglutination war in 20 Fällen, Y in 3 Fällen und Kruse in 1 Fall stark überwiegend. In 1 Fall hielten sich Kruse und Y und in einem anderen Kruse und Flexner die Wage. In fast allen Fällen war eine Mitagglutination eines oder der beiden anderen Seren vorhanden. Ich war darum z. B. oft gezwungen, eine Diagnose in folgender Form zu stellen:

Patient X: Dysenteriebacillen + Flexner +++
Kruse ++
Y +

Gewöhnlich trat die Agglutination bei leichter Erwärmung rasch ein. Manchmal war sie aber auch so schwach, daß sie sich verzögerte, ja es bedurfte in einigen Fällen erst einer ein- oder mehrmaligen Umimpfung auf Agar, um sie positiv ausfallen zu lassen. Wie wechselnd sie sein kann, beweist gerade der Fall, der über 2 Monate Dysenteriebacillen im Stuhl hatte. Patient war 53 Jahre und schwer erkrankt. Zu Beginn seiner Krankheit trat erst nach Umimpfung auf Agar eine schwache Agglutination mit Flexner ein. Allmählich nahm dieselbe bei den folgenden Stühlen immer mehr zu, so daß sie nach einem Monat so stark war, daß bei einer Verdünnung des Flexner-Serums von 1 : 800 noch eine schnelle Agglutination eintrat. Im allgemeinen wurden die Seren in Verdünnungen von 1 : 100 angewandt. Es wurden natürlich nur solche Agglutinationen für + erachtet, bei denen die Kontrollen — geblieben waren.

In einen gewissen Gegensatz zu dem vorigen setzt sich ein anderer Fall. Ich bemerke bei dieser Gelegenheit, daß ich absichtlich vermieden habe, meine sämtlichen Fälle der Reihe nach mit allen Symptomen und Befunden aufzuführen, ich muß aber dennoch an manchen Stellen den einen oder anderen ausführlicher heranziehen. Ein Patient erkrankt am 1. Sept. 1912, und, nachdem er wiederhergestellt ist, am 9. Okt. 1912 abermals an Fieber, blutig-schleimigen Durchfällen und leichten Leibschmerzen. Beidemal war die Krankheit leicht und verlief in der gleichen Weise. Jedesmal konnte ich bei der Stuhluntersuchung auf den Drigalski-Platten Dysenteriekolonieen feststellen, die sich auch in den mikroskopischen Präparaten als unbewegliche Stäbchen mit ziemlich reichlichem Formenwechsel auswiesen. Mit keinem unserer Sera war irgendwie eine Agglutination zu erzielen. Mit dem eigenen Serum agglutinierten die Bacillen. Der Widal war mit Flexner und Y schwach positiv. Es kann sein, daß mit einem Strong- oder anderem Dysenterieserum eine Agglutination eingetreten wäre.

Weiterhin kam es vor, daß bei manchen Stämmen, die eine Mitagglutination aufwiesen, diese Mitagglutination auf einmal die Hauptagglutination verdrängte. Dies sah ich sowohl an mehrmals weitergeimpften Stämmen als auch während des Verlaufs der Krankheit beim einzelnen Patienten. Otto Mayer hat dasselbe durch Tierpassage erreicht. Beim Weiterzüchten seiner Primärkolonieen verloren dieselben diese Eigenschaft wieder. Was Mayer bei seinen Kaninchen sah, konnte ich durch Zufall am Menschen beobachten.

Es handelt sich wiederum um den Chronischruhrkranken Bu., von dem die letztjährige Epidemie ausgegangen war. An dessen Erkrankungstag wurden bei ihm Dysenteriebacillen festgestellt, die folgendes Agglutinationsbild boten: Kruse ++, Y ++, Flexner +. Sein auf

der Siechenstation zuerst angesteckter Bettnachbar ändert dieses Bild in folgender Weise um: Kruse +++, Flexner ++, Y —.

Fast alle nachfolgenden anscheinend auch teilweise durch Zwischenpassagen erfolgende Ansteckungen weisen in der Hauptagglutination Flexner auf.

Hieraus geht hervor, daß das serologische Verhalten der Dysenteriebacillen ein inkonstant-konstantes ist. Konstant ist es insofern, daß sich schließlich alle Dysenteriebacillen mit einem entsprechenden Dysenterieserum agglutinieren lassen; inkonstant ist es aber, weil diese Agglutination in ihrer Art und ihrem Grad sehr wechselt und verschiedenartige Seren verlangt.

Die Differenzierung mit den Zuckernährböden zeigte noch ungenauere und unkonstantere Verhältnisse wie die Agglutination. Die Tabelle im Kolle-Hetsch gibt folgende Aufstellung:

	Lackmus-Mannit-Agar	Lackmus-Maltose-Agar	Lackmus-Rohrzucker-Agar
Kruse:	blau	blau	blau
Flexner:	rot	rot	„
Y:	„	blau	„

Das sieht sich sehr schön an, nur stimmt es nicht. Zunächst verstehe ich nicht recht, was der Rohrzucker mit einer Differenzierung zu tun hat, wenn er immer blau bleibt. Ich verwandte außer den vorstehenden Zuckerarten auch noch versuchsweise Dextrose, und das einzige, was ziemlich übereinstimmend war, ist, daß Rohrzucker am wenigsten und Dextrose immer sehr stark von den Dysenteriestämmen umgesetzt wurde. Dies waren somit eher einigende wie trennende Eigenschaften. Es blieben also nur noch Mannit und Maltose. Dieselben wurden immer angegriffen, nur an der Intensität konnte man einen Unterschied erkennen, und ich empfehle dabei noch mehr wie die Agar- die flüssigen Zuckernährböden, die schönere Differenzierungen zeigten. Um das Verhalten der Zuckernährböden zu illustrieren, will ich nur in einer kleinen Tabelle die Stämme anführen, bei denen die Agglutination einheitlich und hochpositiv für Flexner war. Status nach 48 Stunden Bebrütung:

		Rohrzucker	Dextrose	Mannit	Maltose
Dys.-Stamm:	Lü.	blau	rot	rot	leicht rot
„ „	Bo.	„	„	„	„ „
„ „	C.	ganz leicht rot	„	leicht rot	rot
„ „	F.	„ „ „	„	„ „	stark rot
„ „	S.	„ „ „	„	stark rot	rot
„ „	Lu.	„ „ „	„	„ „	stark rot
„ „	R.	leicht rot	„	rot	rot
Ein Coli-Stamm		rot	„	leicht rot	„
Dys.-Stamm:	Be.	„	„	rot	„

Aus der Tabelle ist alles zu ersehen, und ich will nur noch hinzufügen, daß der Stamm R. mein bester Flexner-Stamm war, daß ich demselben etwas abgetrennt einen Coli-Stamm eines Dysenteriekranken und meinen einzigen Dysenteriestamm Be., der mit keinem Dysenterieserum agglutinieren wollte, angefügt habe.

Darum vertrete ich mit Kruse den Standpunkt, daß eine Differenzierung der Dysenteriestämme mit Zuckernährböden nicht möglich ist, da sie innerhalb derselben Gruppe keine einheitlichen Resultate liefern. Ich habe zu wenig Y und Kruse, um diesen Gruppen gegen-

über ein Urteil abgeben zu können, in meinen 6 Fällen war das Verhalten auf jeden Fall nicht mit den Angaben von Kolle-Hetsch übereinstimmend. Die Differenzierung mit den Zuckernährböden ist zweifellos zur Beobachtung der Eigenschaften eines einzelnen Stammes ein ausgezeichnetes Hilfsmittel, für den praktischen Gebrauch steht sie aber gegenüber dem rasch und fein messenden Maßstab der Agglutination gänzlich zurück. Dabei liegt nicht der Hauptwert der Agglutination in ihrer Differenzierung, sondern in der Agglutination an und für sich selbst.

Es ist von anderen Autoren schon darauf hingewiesen worden, daß der Stuhlausstrich rasch zu geschehen hat. Ich habe mich über diesen Punkt selbst noch einmal informieren wollen und zu diesem Zweck Versuche gemacht. Diejenigen Dysenteriestühle, die auf den Platten nur Dysenteriekolonieen aufwiesen, habe ich in 3 Fällen zurückbehalten und mehrere Tage immer denselben Stuhl auf Drigalski ausgestrichen:

Ausstrich am 1. Tag: nur Dysenteriekolonieen auf der 2. Ausstrichplatte bei allen 3 Fällen.
„ „ 2. „ zahlreiche Dysenteriekolonieen mit einigen Coli-Kolonieen auf der 2. Ausstrichplatte in allen 3 Fällen.
„ „ 3. „ die Coli-Kolonieen überwiegen die Dysenteriekolonieen in allen 3 Fällen.
„ „ 4. „ in 2 Fällen sind nur noch Coli gewachsen, in 1 Fall sind die Platten steril geblieben.

Bei fast allen anderen Stuhluntersuchungen waren weniger Dysenteriekolonieen gewachsen. Ueberall war auf den Platten Coli mehr oder weniger beteiligt. Wenn man diese Stühle, die also beim sofortigen Ausstrich positiv waren, und wenig Dysenteriekolonieen wachsen ließen, 24 Stunden stehen ließ und dann wieder ausstrich, so wuchsen aus ihnen keine Dysenteriebacillen mehr. Das bestätigt die schon von Lentz aufgestellte Forderung, daß jede Irrenanstalt ihr eigenes bakteriologisches Laboratorium besitzen muß, das von einem bakteriologisch ausgebildeten Anstaltsarzt zu leiten ist. Nur auf diese Weise können beim geringsten Dysenterieverdacht die Stuhluntersuchungen sofort vorgenommen werden, deren Ausstrich, wenn irgend möglich, am Krankenbett zu erfolgen hätte. Bei einer Uebersendung der Stühle nach auswärts dürften nur noch die sehr reichlich bacillenhaltigen Stühle positiv sein, was unsere Düsseldorfer Untersuchungen bestätigen.

Durch die Einrichtung unseres Laboratoriums war es Herrn Dr. Lenneper auch erst möglich, sogenannte Bacillenträger festzustellen. Er fand unter den Frauen 3 kräftige und körperlich gesunde Patientinnen, die vor- und nachher nie an Ruhr erkrankt waren. Ferner konnte von ihm ein ebensolcher Pfleger eruiert werden, und auch ich konnte einen kräftigen jungen Pfleger mit dem gleichen positiven Stuhlbefund herausfinden. In allen diesen Fällen verschwand der positive Stuhl sehr schnell wieder und konnte trotz der sich über 1 Jahr erstreckenden Nachuntersuchungen nie mehr festgestellt werden. Dies und die Beobachtungen von Küster und Hawkins, die unabhängig voneinander bei ihren Bacillenträgern mit dem Rectoskop Ulcera feststellten, erklären mein „sogenannt", weil diese Fälle keine Bacillenträger, sondern pathologische Dysenteriekranke ohne klinisch bemerkbare Symptome sind. Sie kommen darum nicht für die Entstehung der Epidemieen, sondern als eine Folge der-

selben in Betracht. Sie spielen nur als gelegentliche Zwischenträger bei der Ausbreitung der Epidemie eine Rolle.

Meine pathologischen Befunde beschränken sich auf 4 Fälle. Jedoch fügt es sich, daß jeder ein anderes Stadium betrifft. Ich führe aus den Sektionsprotokollen nur das Wesentliche des einzelnen Darmbefundes für sich an und fasse ihr Gemeinsames unten zusammen.

1) O., 73 J. Größe 162 cm, Gewicht 37 kg. Psych.: präsenile Demenz.

Anatomische Diagnose: Pneumonie der linken Lunge, chronische Bronchitis mit Bronchiektasen. Frische fibrinöse Pleuritis links. Schrumpfnieren, großer Cholestearinstein, chronische Meningitis, Atrophie der Hirnrinde. Dysenterie in Heilung.

Darmbefund: Im oberen Dünndarm ziemlich reichlich dünner gelber Kot, der im mittleren und unteren Teil weniger wird und etwas Schleimbeimischung zeigt. Unterer Dünndarm stellenweise injiziert. Im Dickdarm Injektionen reichlicher und besonders im Colon transversum ausgedehnter. Hier umfassen sie kleine Schleimhautdefekte. Dickdarm enthält geringe Mengen stark mit Schleim vermischten Stuhl. Im Mastdarm ist Schleimhaut leicht von der Darmwand abzuheben, derselbe ist leer, kontrahiert, und seine Wand bei reichlichen Injektionen mit Eiter und Schleim überzogen.

Bakteriologische Untersuchung: Dünndarm, oberer, nur Coli; mittlerer Coli, unterer Coli. Dickdarm: Coecum nur Coli; Colon transv. Coli; Colon descendens Coli und Streptococcus. Mastdarm: Coli und Streptococcus.

2) Bo., 47 J. Größe 166 cm, Gewicht 31 kg. Psych.: Paralyse.

Pathologische Diagnose: Dysenterie bei Paralyse im Endstadium. Atherosklerose der Aorta. Hochgradiger Marasmus.

Darmbefund: Im Dünndarm wenig mit Schleim vermischter Inhalt und im unteren Teil stellenweise Injektionen.

Im Dickdarm derselbe Inhalt, nur hier in den untersten Teilen mit Blutbeimischung. Im Colon transversum beginnend bis herab zum Analring zahlreiche kleine Ulcera, die isoliert auf der Höhe der Schleimhautfalten liegen.

Bakteriologische Untersuchung: In allen wie bei 1) aufgeführten Darmabschnitten nur Coli.

3) Bö., 56 J. Größe 169 cm, Gewicht 53 kg. Psych.: Dementia senilis.

Anatomische Diagnose: Dysenterie. Pleuritische Schwartenbildung, chronische Cholecystitis, Klumpfuß rechts. Hypoplasie der beiden Stirnhirne und des linken Schläfenlappens, hochgradige Erweiterung der Stirnhöhlen.

Darmbefund: Im Dünndarm Schleimhaut intakt, stellenweise injiziert, wenig dünner schleimiger Kot. Letzteres auch im Dickdarm. Im Colon descendens und sigmoides finden sich zahlreiche kleinere und größere Geschwüre teilweise konfluierend.

Bakteriologische Untersuchung: Aus Galle und den vorher genannten Dünn- und Dickdarmteilen nur Coli. Aus Milz und Leber Kulturen steril.

4) M., 75 J. Größe 161 cm, Gewicht 49 kg. Psych.: Dementia senilis.

Anatomische Diagnose: Perforationsperitonitis bei Dysenterie. Bronchitis und Emphysem. Hypertrophie des linken Ventrikels. Atherosklerose der großen Arterien. Atrophie der Hirnrinde.

Darmbefund: Im Verlauf des ganzen Dünndarms sind an zahlreichen Stellen Injektionen; überall finden sich eitrig-schleimige Auflagerungen der Schleimhaut, die im unteren Teil zunehmen. Vor der Iliocöcalklappe treten kleine, dichtgestellte Geschwüre auf, die nicht tief in die Darmwand vordringen. Im Dickdarm nehmen die Ulcera an Zahl und Größe zu, so daß sie vom Colon descendens ab die innere Darmwand in eine große Geschwürsfläche verwandeln, aus der nur noch wenige Schleimhautinseln hervorragen. Vom Sigmoideum ab ist der Darm kontrahiert, seine Wand ist derb und verdickt und innen mit Eiter bedeckt. Die Schleimhaut fehlt ganz. Im Dünndarm wenig stark schleimiger, dünner gelber Kot; im Dickdarm fast nur Schleim, Eiter und kleine Epithelfetzen.

Bakteriologische Untersuchung: Galle und ganzer Dünndarm nur Coli. Dickdarm an 4 Entnahmestellen: Coli und Staphylococcus; letztere nach unten reichlicher.

Von Fall 4 ist noch Bauchsitus und Peritonealbefund anzuführen: Nach Eröffnung der Bauchhöhle liegen Netz und die etwas geblähten Darmschlingen vor. Ohne den Situs anzufassen, sieht man in der Umgebung der linken Dickdarmflexur eine sich nach hinten ausbreitende, leichte gelblich-kotartige Verfärbung. Da die Darmwand sofort an dieser Stelle einreißt, kann die anscheinend kleine, im Endstadium eingetretene Perforation nicht festgestellt werden. Das Peritoneum ist sonst überall sehr trüb, mit

eitrig-fibrinösen Belägen und leicht verklebt. Eine Entnahme von ihm ergibt sowohl im frischen Präparat wie in der Kultur Coli und Staphylococcus.

Den 4 Fällen gemeinsam waren Art und Beschaffenheit der Ulcera. Dieselben waren ziemlich klein und gingen meist nicht über Pfennigstückgröße hinaus. Wo sie größer waren, hatte man mehr den Eindruck, als ob sie durch Konfluieren entstanden wären. Sie drangen nicht tiefer in die Darmwand vor und beschränkten sich in der Regel auf die Dicke der Schleimhaut; nur in Fall 4 war an der linken Dickdarmflexur ein fast die ganze Dicke der Darmwand durchsetzendes Vordringen zu beobachten. Ihr Rand war gezackt und gar nicht oder leicht unterminiert. Ihr Grund war glatt rötlich-grau und fast stets mit zäh anhaftendem Schleim überzogen. Sie waren von rundlicher Form mit einer Neigung zur Querstellung.

Die Sektionen wurden von mir ausgeführt. Ich habe die Fälle nach ihrer Steigerung für die pathologischen Dysenteriebefunde zitiert. Selten muß die Kombination mit Darmperforation sein, denn ich konnte weder in den Lehrbüchern, noch in der mir zugänglichen Literatur etwas hierüber finden. Den 4 Fällen gemeinsam ist die vollständig negative bakteriologische Darmuntersuchung. Dies würde eine traurige Perspektive für den Pathologen eröffnen, wenn hier die Fälle nicht etwas eigenartig lägen. Bei 2 von ihnen (Fall 1 und 4) konnte auch in vivo trotz aller Bemühungen kein Stuhl + befunden werden. Ihr pathologischer Status kann dies vielleicht insofern erklären, als bei ihnen im Dickdarm und namentlich im Endteil desselben eitrige Partieen mit Kokken angetroffen wurden. Während gerade diese beiden Sektionen innerhalb 24 Stunden post mortem gemacht werden konnten, war diese Zeit bei den anderen bedeutend länger. Es empfiehlt sich darum für den Pathologen, bei Dysenterieverdacht möglichst sofort nach Einlieferung der Leiche aus dem Anus eine Stuhlprobe zu entnehmen und die Sektion wegen der Darmentnahmen so früh wie möglich zu machen. In meinen Fällen war die Analentnahme nicht nötig, weil in vivo kurz vorher Stuhluntersuchungen stattgefunden hatten. Diese hatten in Fall 2 und 3 positive Resultate ergeben.

Ich komme nun zu dem wichtigsten Kapitel, zu den Chronisch-ruhrkranken (ChRKr). Ich war genötigt, in meinen seitherigen Ausführungen wiederholt diesen Begriff anzuwenden. Was man unter dem Wort zu verstehen hat, sollen die folgenden Zeilen erklären:

Schon Lentz hat auf diese Patienten aufmerksam gemacht, und ich gebrauche für sie den gleichen Ausdruck wie er, weil er das Wesen der Sache trifft. Lentz weist auch bereits darauf hin, daß Lucksch, Macalister und Menzies unter ihren chronischen Ruhrbacillenträgern dasselbe verstanden haben müssen. In den Lehrbüchern ist über diese Frage noch nichts zu finden, und doch verdanken wir den ChRKr., daß wir noch heute unter der Dysenterie zu leiden haben.

Ich verstehe unter einem ChRKr. einen Patienten, der nachweislich seit vielen Jahren auch in isolierter Umgebung an Dysenterie leidet. Dieser Nachweis ist außerhalb einer Anstalt sehr schwer, ja selbst trotz unserem heutigen Seuchengesetz nahezu in den meisten Fällen unmöglich. Denn gerade die hier in Betracht kommenden Menschen werden von der Ruhr meist so wenig tangiert, daß sie selten in die Hände des Arztes kommen. Hier setzt ein großes Verdienst unserer

Irrenanstalten ein, denn ohne dieselben wäre eine einwandfreie Auffindung der Chronischruhrkranken (ChRKr) kaum möglich geworden.

Unter meinen Patienten fanden sich 4 ChRKr. Ich muß diese 4 Fälle ihrer Wichtigkeit gemäß eingehend anführen. Wie schon oben erwähnt, sind es lauter Männer.

1) Fr. 50 J. Kräftige gesunde Konstitution und guter Ernährungszustand. Psych.: Dementia paranoides. In Irrenanstalt seit 21. April 1881. Patient gab bei gutem Erinnerungsvermögen selbst an, daß er seit seinem 16. Lebensjahr unter zeitweisen Leibschmerzen und Durchfällen zu leiden habe. Sein Journal führt an:

31. Juli 1891. Klagt über Leibschmerzen und Durchfall.
16. Juli 1892. Hat Abführen, Durchfall, Darmkolik und Fieber: 38^4.
15. Aug. 1910. Durchfall, Blut und Schleim im Stuhl.
20. März 1911. Darmkatarrh ohne Blut und Schleim.
17. Juni 1911. Noch Blut im Stuhl (dazwischen freier Intervall).
14. Dez. 1911. Stuhluntersuchung negativ (von diesem Termin ab wurde der Stuhl jeden Monat untersucht und war immer negativ).
30. Nov. 1912. Fieber, Durchfall mit Schleim- und Blutbeimischung. Leichte Leibschmerzen. Stuhluntersuchung: Dysenteriebacillen + Hauptagglution: Flexner.

Auch im freien Intervall war der Widal positiv. Dies war das einzige, was bei diesem Patienten in der langen Zeit vom 17. Juni 1911 bis 30. Nov. 1912 auf Ruhr hätte hinweisen können. Wer macht ohne Grund einen Widal? Der Patient hatte unter seiner Krankheit so wenig zu leiden, daß er nicht einmal darauf aufmerksam machte. Ich habe bei ihm die jeweiligen klinischen Einträge wortgetreu angeführt. Man sieht an ihnen, daß sie unter Variationen eine dysenterieverdächtige Erkrankung bezeichnen. Bei den nachfolgenden ChRKr. sind sie im wesentlichen dieselben, nur sind sie, weil meist jüngeren Datums, präziser.

2) ChRKr. O. 73 J. Seniler marantischer Körper. Psych.: Präsenile Dem. (unter den Todesfällen No. 1). In Irrenanstalt seit 4. Juli 1890. Erkrankt am: 12. April 08, im Mai 08, im Nov. 08, im Nov. 09, am 18. Aug. 10, am 2. April 12, am 18. Juni 12, am 8. Dez. 12, am 2. Jan. 13.

An diesem Patienten ist am deutlichsten zu sehen, wie wenig er von der Ruhr angegriffen wird. Er ist ein marantischer Greis, der schon lange Zeit so schwach ist, daß er sich nicht mehr allein außerhalb des Betts bewegen kann. Besonders im letzten Jahre haben sich seine Dysenterieerkrankungen gemehrt, aber er stirbt nicht, wie man erwarten könnte, schließlich an der Ruhr, sondern an einer Pneumonie.

Er hat mir im Anschluß an seine Erkankung vom 2. April 1912 zu einer wertvollen Beobachtung über die Kontagiosität der Dysenterie verholfen. Er lag damals mit noch 3 anderen Patienten in einem Zimmer abgeschlossen auf der Ruhrstation. Alle 3 erkranken nach ihm, und an diesen Patienten kann ich im Stuhl Dysenteriebacillen feststellen, die stark mit Flexner-Serum agglutinieren. Bekanntlich konnte ich bei O. selbst niemals Dysenteriebacillen finden, dagegen war sein Widal mit Flexner auch im freien Intervall hoch positiv. Es besteht hier also der hochinteressante Zufall, daß während der Nachweis der Dysenteriebacillen im Stuhl des ChRKr. nicht möglich war, die Dysenteriebacillen durch Menschenpassage eine Umwertung gefunden haben, die ihren Nachweis ermöglichte.

Die gleiche Beobachtung konnte ich noch einmal machen, nur bot sie sich nicht so abgeschlossen dar. Es handelt sich um No. 4 meiner Todesfälle, bei dem ebenfalls keine Dysenteriebacillen gefunden worden waren. Nach seiner Einlieferung auf der Ruhrstation findet eine Häu-

fung der Erkrankungen dort statt, und es können an Patienten, deren Stuhl früher negativ war, Dysenteriebacillen (Flexner) festgestellt werden.

3) ChRKr. H. 37. J. Marantische Konstitution, stark reduzierter Ernährungszustand. Psych.: Epilepsie in totaler Verblödung. In Irrenanstalt seit April 1898. Erkrankt am: 6. April 07, im März 09, im Nov. 10, im Nov. 11, am 27. Febr. 12, am 24. April 12, (Stuhl: Dysenteriebacillen +).

Der Widal dieses Patienten war im freien Intervall negativ. Er gehört trotz der Häufigkeit seiner Erkrankungen noch nicht ganz einwandfrei zu den ChRKr. Er hat immer in der Umgebung von Ruhrkranken gelegen insonderheit war er mit den ChRKr. 1 und 2 isoliert. Mit diesen zusammen wurde er uns am 14. Dez. 1911 bei der Auflösung der Departementalirrenanstalt zu Düsseldorf von dort überwiesen. Seine beiden hiesigen Erkrankungen können als Ansteckungen betrachtet werden, weil sie sich örtlich und zeitlich an Erkrankungen von den ChRKr. 1 und 2 anschließen. Ich habe den zweifelhaften Fall dennoch hier mitinbegriffen, um zu zeigen, wie schwierig das Herausfinden der ChRKr. ist.

4) ChRKr. Bu. 77 J. Gewicht: 39,5 kg. Senile, reduzierte, doch ziemlich zähe Körperkonstitution. Psych.: Dementia senilis. In Irrenanstalt seit 19. April 1911. Erkrankt am: 16. Mai 11, am 13. Nov. 11, am 2. Juni 11, am 9. Aug. 12, am 20. Sept. 12.

Der letzte ChRKr. ist der Patient, von dem die Epidemie des Jahres 1912 ausgegangen ist. Er ist erst seit beinahe 2 Jahren in Anstaltsbehandlung, seine Erkrankungen treten aber so isoliert auf, daß er nur ein ChRKr. sein kann. Sein Widal war sowohl in Düsseldorf wie hier im Anschluß an die Erkrankung und hier auch im freien Intervall positiv; seine Erkrankungen waren immer leicht, und dann kommt noch etwas sehr Wesentliches, in seiner Anamnese findet sich die Angabe: 1879 vielleicht Typhus. Also vor über 30 Jahren hat Patient vielleicht nicht Typhus, aber Dysenterie gehabt.

Ich fand unter meinen Patienten noch 8, die 3 und teilweise auch 4mal erkrankt waren. Es waren aber ihre Erkrankungen fast immer Ansteckungen, kamen meist auf der Ruhrstation vor, ihr Widal war im freien Intervall negativ und bei keinem ließ sich eine weiter als die Epidemieen zurückliegende Erkrankung feststellen. Dennoch ist es nicht ausgeschlossen, daß sich unter ihnen oder unter unseren übrigen Patienten noch ein oder der andere ChRKr. verborgen hält.

Nachdem die ChRKr. als die Entstehungsherde der Dysenterie eruiert sind, bleibt noch die Frage offen: wie kommen dieselben aber selbst zu ihrer Dysenterie. Diese Frage wird nur mit Deduktionen beantwortet werden können. Selbst wenn Hawkins die ChRKr. mit seinen versprengten mittelalterlichen Resten gemeint hätte, darf dies doch unter keinen Umständen so verstanden werden, daß in dem besonderen Milieu der Irrenanstalten sich diese Krankheit von einem geeigneten Individuum zum anderen traditionell weitervererbe und gelegentlich in und außerhalb der Anstalt eine Epidemie hervorrufe[1]). Von meinen ChRKr. sind 1 und 4 schon viele Jahre vor ihrem Eintritt in die Anstalt erkrankt gewesen, und am 15. Jan. 1913 wurde uns ein Patient eingeliefert, von dem die Ortsbehörden angaben, daß er seit

1) cf. hierzu den eingangs zitierten Passus aus dem Jahresbericht der rheinischen Irrenanstalten.

langer Zeit an ruhrartigen Durchfällen leide, während sonst in dieser Gegend keine Ruhr herrsche. Der Mann war ebenfalls 70 Jahre alt und beweist mit meinen anderen ChRKr., welch guter Gesundheit sich dieselben sonst erfreuen. Es ist also die Existenz der ChRKr. in keiner Weise an die Irrenanstalt als solche gebunden, sie finden dort nur ein geeigneteres Angriffsfeld.

Darum muß es in der Bekämpfung der Dysenterie der Irrenanstalten die Hauptaufgabe derselben sein, sich von ChRKr. frei zu machen oder frei zu halten. Dies ist aber nur möglich, wenn alle in Betracht kommenden Faktoren zusammenarbeiten. Es muß jede auch nur irgendwie dysenterieverdächtige Erkrankung gemeldet werden, und jeder solcher Patient sofort isoliert und klinisch und bakteriologisch beobachtet werden. Dazu muß jede Anstalt ein entsprechend eingerichtetes Infektionskrankenhaus besitzen. Dasselbe hat möglichst getrennt von der übrigen Anstalt zu liegen und muß aus 4 vollständig voneinander getrennten Stationen bestehen:

1) Aufnahmestation für die Verdächtigen, bis deren Erkrankung klinisch oder bakteriologisch sicher gestellt ist, darum mit vielen Einzelzimmern.
2) Station für die klinisch Ruhrkranken.
3) Beobachtungsstation für Rekonvaleszenten.
4) Isolierungsstation für die ChRKr.

Es versteht sich, daß alle Kautelen einer Infektionsstation in Bau und Einrichtung angewendet sein müssen, und besonders muß ein entsprechend ausgebildetes Pflegepersonal vorhanden sein. Auch außer der Aufnahme müssen auf allen Stationen genügend Einzelzimmer eingerichtet sein, die leicht überwacht werden können. Es kann sonst die Verschiedenartigkeit der psychischen Krankheit zu große Schwierigkeiten hervorrufen. Die Notwendigkeit einer Aufnahmestation beweist die Tatsache, daß es uns nicht möglich war, dysenterieverdächtige Patienten, bei denen bald eine andere Darmerkrankung festgestellt werden konnte, wieder von der Ruhrstation wegzuverlegen. Die ChRKr. wären noch besser wie oben wieder in einem Haus für sich untergebracht. Da sie dauernd isoliert gehalten werden müssen, müssen ihnen auch entsprechende Existenzbedingungen geboten werden. Es würde ja ein solches Bewahrungshaus der ChRKr. für jede Provinz genügen.

Nur so wäre es möglich, die Dysenterie wirksam zu bekämpfen. Daß unsere seitherigen Maßregeln und Hilfsmittel ungenügend sind, beweisen die jedesmaligen Erkrankungen, die auf der Ruhrstation im Anschluß an die Neueinlieferung eines Dysenteriekranken entstehen. Es sind somit alle Insassen der Ruhrstation einer ständigen Ansteckungsgefahr ausgesetzt. Damit ist es auch unmöglich gemacht, dort die ChRKr. von den Angesteckten zu identifizieren, und weil dies unmöglich ist und fortwährend wieder Erkrankungen auf der Ruhrstation stattfinden, kann mit gutem Gewissen kein Patient von dort wieder in die Anstalt zurückverlegt werden. Da die Station aber entlastet werden muß, kann es geschehen, daß ein ChRKr. wie Bu. (Fall 4) auf die Siechenstation zurückgelangt und dort eine neue Epidemie hervorruft.

Darum darf man nicht erstaunen, daß auch immer wieder in der Anstalt neue Ruhrfälle vorkommen. Und während ich dies niederschreibe, ist auf der Frauenseite ein neuer Ruhrfall mit + Stuhl festgestellt, so-

daß ich meine eingangs gemachte Mitteilung von der dysenteriefreien Frauenseite am Schluß meiner Arbeit widerrufen muß. [1])

Die Frage, wie die ChRKr. zu solchen werden, ist bisher noch wenig diskutiert worden. Es bleiben hierfür nur zwei Wege offen. Entweder wurde der ChRKr. einmal von außen mit Dysenteriebacillen infiziert und hat dann dieselben ständig im Darm behalten, oder aber er hat die Eigenschaft, eigene oder fremde coliartige Bacillen zu mutieren. Wie weit diese Mutationen im Tierexperiment innerhalb bestimmter Grenzen gehen können, wissen wir; wie weit sie beim Menschen gehen können, wissen wir nicht. Ich möchte nach meinen Beobachtungen eine Mutation bei den ChRKr. für das Wahrscheinlichere halten. Bei meinen ChRKr. konnten über viele Monate keine Bacillen im Stuhl gefunden werden, dann kam plötzlich die Wiedererkrankung und der + Stuhl war da. Ich konnte ferner sehen, wie im Verlauf der Epidemie die serologischen Eigenschaften der Dysenteriebacillen wechselten, und es ist als sicher anzunehmen, daß damit auch ihre Pathogenität und Giftbildung eine Veränderung erfuhr. Das erklärt den Todesfall des Pat. Bö., bei dem in der Agglutination eine Steigerung nach Kruse eintrat. Kolle-Hetsch und andere Beobachter betonen die größere Toxinbildung der Kruse-Bacillen, und Herr Dr. Becker konnte mir dasselbe an Hand einer in den Jahren 1900/01 an der Irrenanstalt Grafenberg beobachteten Ruhrepidemie bestätigen [2]). Dort hatte eine schwangere Paralytikerin als Ersterkrankte die Ruhr eingeschleppt. Es erkranken 36 Patienten der Frauenseite und sterben 12 davon. Unter den Todesfällen befinden sich kräftige und jugendliche Individuen. Dysenteriebacillen-Typ war Kruse. Die Primärpatientin kam aus einem Spital, in dem gerade eine ausgedehnte Ruhrepidemie herrschte. Sie genas, gebar einen 8 Pfund wiegenden Knaben, wurde gebessert entlassen, um zurückzukehren und an Paralyse zu sterben.

Diese Auf- und Abbewegung in der Pathogenität ist nur durch die Zwischenpassage möglich. Sie spricht ebenfalls für eine Mutation coliartiger Bacillen in Dysenteriebacillen [3]). Um ein weiteres Analogon anzuführen, muß ich zu der nahverwandten Typhusgruppe übergreifen. Dort sind Bacillenträger festgestellt, die ohne klinische und pathologische Erkrankung Typhusbacillen in ihrem Körper, namentlich Gallenblase und Darm, beherbergen. Man hat weiter festgestellt, daß jahrelang in ihrer Umgebung niemand erkrankt ist. Lentz meint, die Umgebung wäre immun. Plötzlich erkrankt jemand, der neu hinzukam oder der Typhusbacillenträger kommt in eine neue Umgebung und ruft dort Typhusfälle hervor, weil die Immunität hier nicht vorhanden sei. Ich stelle mir die Sache anders vor. Der Typhusbacillenträger, der ihm und seiner gewohnten Umgebung nichts schadende Bacillen ausscheidet, kommt plötzlich mit einer Person zusammen, die die Fähigkeit hat, seine Typhusbacillen in hochvirulente Typhusbacillen umzumutieren [4]);

---

1) Patient, 53 J., seit 21. Okt. 1912 in der Anstalt. Gesunde kräftige Konstitution unrein. Erkrankt am 18. Jan. 1913 auf Station 2 d: Fieber 39,9°, Durchfall mit Schleim- u. Blutbeimischung. Erkrankung leicht, Fieber nach 2 Tagen weg. Stuhl: Dysenterie + (Flexner ++ Kruse + Y —). 23. Jan. 1913 Stuhl: nur Coli.

Am 25. Jan. 1912 erkrankt nächste Pat. auf 2 d (schwächlichs reduzierte Konstit.). Stuhl: Dysenterie + (Flexner +++, Y +, Kruse —).

2) Zitiert nach d. Jahresber. üb. d. Provinzial-Heil- u. Pflegeanst. d. Rheinprov.

3) Cf. Otto Mayer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912.

4) Cf. Otto Mayer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912.

und von diesem Patienten gehen erst alle nachfolgenden Erkrankungen aus. Damit stimmt auch die zeitliche Ausbreitung, wie sie jetzt wieder bei dem Hanauer Eisenbahnbataillon stattgefunden hat überein [1]). Dort wurde ein Kartoffelsalat ermittelt, der von einer Typhusbacillenträgerin infiziert war. Wenn sich nun alle Mannschaften oder selbst nur ein großer Teil derselben an dem Salat selbst infiziert hätten, dann hätten die Erkrankungen nach der Inkubationszeit in großen Schüben auf wenige Tage zusammenfallen müssen. Das ist aber nicht der Fall, sondern die Erkrankungen setzen ganz allmählich ein und verteilen sich gleichmäßig über viele Wochen. Es sind demnach die avirulenten Bacillen durch den Kartoffelsalat, der wahrscheinlich auch nicht zum erstenmal von den betreffenden Personen angerichtet war, auf 1 (ev. auch mehrere [2]) Personen gekommen, die imstande waren, dieselben in hochvirulente zu mutieren und damit sich und ihre Kameraden anzustecken.

Hierbei möchte ich auf einen Antagonismus aufmerksam machen, wie er sich in vielen Punkten zwischen Dysenterie und Typhus bemerkbar macht:

Dysenterie:	Typhus:
Mehr pathogen für Aeltere, Geschwächte und Atonische.	Mehr pathogen für Jüngere, Kräftige und Agile.
Kurzer klinischer Verlauf mit atypischer Fieberkurve.	Protrahierter klinischer Verlauf, typische Fieberkurve.
Mutation und Primärlokalisation im ruhenden Enddarm.	Mutation und Primärlokalisation im peristaltischen Dünndarm.
Neigung zur Querstellung der Ulcera	Neigung zur Längsstellung der Ulcera.
Vorkommen im Körper auf Darm beschränkt.	Uebertritt aus Darm in Blut und Organe.
Bacillen ohne Geißel und ohne Eigenbewegung.	Bacillen mit reichlichen Geißeln und Eigenbewegung.
Anale Infektion?	Orale Infektion.

Es ließen sich vielleicht noch einige Punkte gegenüberstellen, aber man sieht schon, wie die beiden Bakterienarten den positiven und negativen Pol einer Familie bilden, in deren Entwicklungsmitte Coli steht. Wir können beobachten, daß die Bacillen auf ihren Darmpassagen anpassende Eigenschaften anzunehmen gezwungen sind, um mit diesen bewaffnet fremden Organismen gefährlich zu werden. Durch ihre beherrschende Verbreitung und schnellen Generationswechsel sind sie für eine Mutation wie geschaffen. Diese Mutation ist eine Anpassung.

Während meiner Tätigkeit am Untersuchungsamt der Stadt Charlottenburg hatte ich Gelegenheit, ein wechselndes serologisches Verhalten auch bei den Typhusbacillen zu sehen. Es liegt eine soeben erschienene Arbeit von Bernhard und Ornstein vor, deren Beobachtungen an Typhus auf das Gleiche hinzielen. Es wird heute niemand mehr in Zweifel ziehen können, daß eine fortwährende Mutation und Variabilität innerhalb der einzelnen großen Bakteriengruppen stattfinden kann und stattfindet, und daß vor allem die große Coli-Familie in dieser Beziehung herausragt. Ich halte es nun nicht für richtig, daß man auch innerhalb der Untergruppen derselben, die sich besonders schon durch ihre Geißeln unterscheiden, weiter zu spalten sucht und alle möglichen trennenden Kriterien herausfindet. Ich glaube, daß man schließlich für jeden einzelnen Stamm ein ganz besonderes Serum finden und ganz besonders feine chemische Eigenschaften entdecken kann. Darum halte ich es für

1) Zitiert nach den Veröffentlichungen in den Tageszeitungen.
2) Cf. Otto Mayer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912.

zweckvoller, wenn man mehr nach gemeinsamen Punkten suchen wollte, die es ermöglichen, dem bestimmten klinischen und pathologischen Befund auch ein entsprechendes scharf umrissenes bakteriologisches Bild gegenüberzustellen. Und wenn wir es auch dabei mit einem in schnell wechselnden Generationen lebenden Organismus zu tun haben, der wie alles in der Welt sich seiner jeweiligen Umgebung anzupassen sucht, so ist dies doch sehr wohl möglich. Es würden dann auch seltener solch divergierende Meinungen zustande kommen, wie sie gerade über die Differenzierung der Dysenteriebacillen zwischen Kruse und Lentz bestehen, die sich beide um die Dysenterie so große bakteriologische Verdienste erworben haben.

Literatur.

Aschoff, Lehrb. d. Pathol. 1911. p. 159.
Bernhardt u. Ornstein, Ueber Variabilität pathogener Mikroorganismen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1913. p. 16.)
Kolle-Hetsch, Lehrb. d. Bakteriol. 1908.
Kruse, Ber. üb. d. 84. Versamml. deutsch. Naturf. u. Aerzte in Münster 1912.
Küster, Ein Dysenteriebacillenträger. (München. med. Wochenschr. 1908. No. 35.)
Lentz, Die Bedeutung der Keimträger in Irrenanstalten. 4. Internat. Kongr. f. Geisteskranke. Berlin 1910. p. 520.
Hawkins, zitiert nach Lentz.
Luksch, „ „ „
Macalister, „ „ „
Menzies, „ „ „
Mayer, Otto, Eigenartige bakteriologische Befunde bei Gesunden aus der Umgebung Ruhrkranker. (Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Bd. 66. 1912. p. 328.)
Neisser, Die Bedeutung der Bacillenträger in Irrenanstalten. (4. Internat. Kongr. z. Fürsorge f. Geisteskranke. Berlin 1910. p. 530.)

Nachdruck verboten.

Beziehungen zwischen Schistosomiasis japonica und der Dermatitis,

unter Berücksichtigung der Methode der Auffindung von Parasiteneiern in den Faeces, und Beiträge zur Kenntnis der Schistosomum-Infektion.

[Aus der Medizinischen Klinik von Prof. Dr. T. Irisawa, Universität Tokio.]

Von Dr. **Yoneji Miyagawa.**

I. Ueber die Beziehungen zwischen der Schistosomiasis japonica und der Dermatitis, unter Berücksichtigung der Methode der Auffindung von spärlichen Parasiteneiern in den Faeces.

Schon seit einigen Jahren ist von verschiedenen Forschern bestätigt worden, daß der Infektionsmodus des Schistosomum japonicum nicht der orale, sondern der kutane ist. Ich fand im Jahre 1911 einige jüngste Würmer des Schistosomum japonicum zur Zeit der Hautinvasion im infizierten, tierischen Hautgewebe, und konnte so den positiven Beweis für die kutane Infektion geben. Trotz verschiedener Untersuchungen besteht aber bis jetzt noch keine Uebereinstimmung über die Beziehungen zwischen der Infektionspforte des Schistosomum

und der Dermatitis, welche angeblich fast endemisch in den Schistosomiasisgegenden vorkommt. 1910 behauptete Prof. Matsuura auf Grund seiner verschiedenen Beobachtungen in Katayama, auch einer Schistosomiasisgegend, daß die Dermatitis ein Primäraffekt an der Infektionspforte des Schistosomum sei; leider aber stimmten die Ansichten der Autoren darüber noch nicht überein. Um diese Frage zu klären, wandte ich im Jahre 1911 verschiedene Untersuchungsmethoden an und will hier ganz kurz über den Krankheitsverlauf bei der Dermatitis berichten.

1) Das Wesen der sogenannten endemischen Dermatitis.

In Japan, besonders in der Provinz Yamanashi, pflegt man nach der Reisernte auf den Feldern im Winter meistens Gerstenkörner, im Frühjahre aber Sempervivum-Samen auszustreuen. Gegen Anfang des Sommers, gewöhnlich im Juni, ackert man diese Felder um, trocknet sie etwa 2 Wochen ziemlich gut aus und läßt dann erst das Bachwasser darüberfließen. Wenn man sich im Juni oder Juli in diese frisch bewässerten Reisfelder oder in das Bachwasser zwischen den Reisfeldern stellt oder taucht, so hat man ab und zu ein außergewöhnliches, juckendes oder leicht stechendes Gefühl an den Beinen, und zwar an den mit der Wasseroberfläche in Berührung gekommenen Teilen, besonders da, wo der Wasserschaum anhaftet; doch fehlt dieses abnorme Gefühl auch oftmals. Fast immer klagen die in diesen Reisfeldern arbeitenden Bauern in den ersten 2—3 Tagen, besonders in der Nachtzeit, über ziemlich heftiges Juckgefühl an den Beinen, oder zeitweise auch an den Händen und überall an den Stellen, wo diese mit dem Wasser in Berührung gekommen sind. Beim Kratzen dieser juckenden Stellen treten leicht erhabene, gerötete, Flohstich-ähnliche, linsengroße Papeln auf, die aber keine Stichwunde zeigen. Beim Druck sieht man infolge der Sugillation eigenartige, gelbliche Farbennuancen. Diese Exantheme treten an den oben genannten, besonders stark aber an den mit der Wasseroberfläche in Berührung gekommenen Hautstellen auf. Nach 4—5 Tagen verkleinern sich gewöhnlich die Ausschläge allmählich, die Rötung nimmt ab und das Jucken vermindert sich, ungefähr eine Woche später bemerkt man an denselben Hautstellen Indurationen mit leichterem Juckreiz, der endlich fast ganz verschwindet. Ab und zu aber vergrößern sich die Ausschläge infolge Kratzens oder werden pustulös und haben natürlich nun einen langsamen Verlauf. Seltener treten die obengenannten Exantheme zahlreich und dicht an den Beinen auf, die Beine schwellen dann ziemlich stark bei stark gestörtem Allgemeinbefinden. An der Dermatitis leiden die Bauern meistens im Juni und Juli, besonders am ersten Tage der Ackerbestellung an den frisch bewässerten Reisfeldern, später aber beim Wasserackerbau nur noch selten oder so spärlich, daß diese Tatsache von Interesse ist. Wenn die Dermatitis ein Primäraffekt an der Eingangspforte des Schistosomum darstellte, müßte die Schistosomum-Infektion in dieser Jahreszeit und bei dieser Arbeit besonders stark sein; das ist aber tatsächlich ziemlich verschieden (s. unten). Während der gleichen Jahreszeiten trat fast immer Dermatitis auf, wenn man sich im Bachwasser zwischen den Reisfeldern bewegte, aber fast immer trat die Erscheinung stärker in den Wasseräckern als im Bachwasser auf, was gegen eine Schistosomum-Infektion spricht.

Der Lieblingssitz der Dermatitis sind die Beine, besonders die Stellen, welche mit Bachwasser in Berührung kamen. Mein Assistent Imasawa und ich bekamen einige Ausschläge an den Unterarmen, welche bei den Versuchen mit Bachwasser unabsichtlich in Berührung gekommen waren. Andere Dermatitiden, welche durch Erde, Dünger oder Tau verursacht werden, zeigen in ihren klinischen Symptomen ziemlich deutliche Unterschiede.

2) Die sogenannten ätiologischen Momente der Dermatitis.

Auf diese will ich hier nicht weiter eingehen, sondern nur kurz die allgemein als Ursache der Dermatitis betrachteten Momente erörtern.

a) Wenn man mit zahlreichen kleinen Dornen bewaffnete Ranken berührt, so treten die Hautausschläge nur an den Hautstellen auf, wo diese Dornen gestochen haben. Solche Pflanzen gibt es verschiedene Arten.

b) Wie oben erwähnt, tritt die Dermatitis am häufigsten in frisch bewässerten, vorher trocken gelegenen Reisfeldern auf, und man sagt, daß die immer mit Wasser bedeckten Felder weniger gefährlich sind. Darum meint man, daß die Dermatitis durch die Erde der Reisfelder, welche längere Zeit dem Sonnenlicht ausgesetzt war, verursacht wird.

c) Man sagt weiter, daß sie in dem Anhaften des Wasserschaums in den oben erwähnten, frisch bewässerten, vorher trocken gelegenen Reisfeldern ihre Ursache habe. Der durch Fäulnis der verschiedenen zahlreichen Pflanzen, durch Staub oder Erde entstandene Schaum scheint eine toxisch wirkende Substanz in sich zu haben. Diese Meinung ist in Yamanashi weit verbreitet.

d) Die Annahme, daß die Dermatitis ein mechanischer Reizeffekt sei, wird im allgemeinen nur wenig geteilt.

Man nimmt also als ursächliche Momente zwei Gruppen an, mechanische und chemische. Meine Untersuchung soll aber nicht die Aetiologie der Dermatitis aufklären, sondern nur Klarheit verschaffen darüber, ob sie als ein mechanischer Reizeffekt, besonders als eine Reaktion an der Einganspforte des Schistosomum betrachtet werden muß. Ich machte 1911 die folgenden Untersuchungen und bekam dabei ein ganz anderes Resultat als Prof. Dr. Matsuura, nämlich daß die Dermatitis im innigen ätiologischen Zusammenhang mit der Schistosomum-Infektion steht.

3) Die Untersuchungsmethoden:

A. Statistische Untersuchungen über Schistosomum-Eier in den Faeces der an Dermatitis leidenden Menschen, sowie über die Methode der Auffindung spärlicher Parasiteneier in denselben.

Die gewöhnliche mikroskopische Untersuchung der menschlichen Faeces auf Parasiteneier ist bei der Diagnose der Helminthiasis von so allgemeiner Bedeutung, daß der praktische Arzt Stuhluntersuchungen unbedingt ausführen muß, aber das ist eine unsichere und zeitraubende Beschäftigung, besonders dann, wenn aus dem Fehlen von Eiern im Stuhle auf die Abwesenheit von Parasiten im Darmkanal geschlossen werden soll. Zur Beseitigung dieser Nachteile wurden verschiedene Vorschläge gemacht; so haben Leichtenstern und Bückler auf die vermehrten eosinophilen Zellen im Blute bei Helminthiasis und auf die Charcot-Leydenschen Kristalle in den Faeces hingewiesen, und

Ivinoff hat auf das Vorhandensein eines für Darmparasiten charakteristischen Stoffes im Harn hingewiesen. Aber alle diese Untersuchungen sind immer zeitraubender und unsicherer für die Diagnose als die gewöhnliche Untersuchung.

Walter Telemann hat eine vorzügliche, verbesserte Untersuchungsmethode mit Chemikalien vorgeschlagen; diese geht dahin, daß man eine kleine Menge von Faeces in einer Mischung von reiner Salzsäure und Aether zu gleichen Teilen unter starkem Schütteln auflöst, durch ein Haarsieb filtriert, das Filtrat zentrifugiert und den erhaltenen Bodensatz mikroskopiert. Diese Methode ist ziemlich gut, hat aber leider noch folgende Nachteile: 1) Das normale Aussehen der Eier wird durch die starke Wirkung der reinen Salzsäure ziemlich stark beeinflußt, so verursacht sie z. B. den gänzlichen Zerfall der natürlichen Struktur der Schistosomum-Eier, das Auflösen der Eiweißhülle der Ascaris-Eier und das Platzen des Deckelchen der Bothriocephalus-Distomum-Eier. 2) Der Nachweis der Eier wird wegen des relativen Reichtums an Nahrungsresten im Bodensatz erschwert. 3) Zeitweise treten starke Explosionen des Reagensglases durch die starke Gasbildung infolge der Mischung des Salzsäureäthers und der Fäkalien ein. Mein Kollege, Dr. S. Yaoita, verwendete daher als Lösungsmittel eine Mischung von gleichen Teilen 25-proz. Antiformins und Aether und erzielte damit gute Resultate, aber die Anreicherungskraft ist immer noch schwächer als bei der Telemannschen Methode. Ich probierte als Lösungsmittel Salzsäure, Eisessig, Antiformin, Schwefelsäure, Salpetersäure, und verschiedene Alkalien in verschiedenen Verdünnungen und erzielte mit 2- bis 3-fach verdünnter reiner Salzsäure als Lösungsmittel ein vorzügliches Resultat, mit Antiformin und etwas verdünntem Eisessig aber nur ziemlich gute Resultate, sonst jedoch keine.

Man bringt je ein erbsengroßes Kotpartikelchen aus 3—4 verschiedenen Stellen der Faeces in ein 7 ccm zweifach oder noch darüber verdünnte reine Salzlösung enthaltendes Reagensglas, und macht durch starkes Schütteln der Faeces eine Emulsion. Sind die Faeces aber sehr hart, so wird mit einem Glasstabe die Salzsäurelösung gut umgerührt und zerkleinert, um die Bildung der Emulsion zu erleichtern; unter Umständen erwärmt man auch die Emulsion ganz leicht, um die Einwirkung der Salzsäure zu verstärken. Einige Arten von Eiweiß, Phosphaten, Karbonaten und einige Nahrungsreste lösen sich in Salzsäure fast vollständig auf. Dann setzt man Aether zu gleichen Teilen zu dieser Emulsion zu und schüttelt anfangs das Reagensglas ganz leicht, um die Explosionsgefahr zu vermeiden, endlich vermischen sich beide Lösungen ganz gut durch das starke Schütteln unter deutlicher Gasbildung. In Aether lösen sich Neutralfett und Fettsäure; je größere Mengen von Aether man anwendet, desto geringer ist daher der Bodensatz. Nun filtriert man die Lösung, um die gröberen Nahrungsschlacken zu entfernen, durch ein etwas grobes Gazetuch und zentrifugiert dann das erhaltene Filtrat 1—2 Minuten lang mäßig. Im Zentrifugiergläschen bilden sich 4 vollständig voneinander getrennte Schichten; die oberste besteht aus dem gelblich gefärbten Aether, die zweite bildet einen Ring (der bei der Telemannschen Methode fehlt), der aus meist pflanzlichen, ungelösten Nahrungsresten, welche wegen ihres geringen spezifischen Gewichtes, und durch die Suspensionskraft der Aetherpartikelchen nach oben gekommen sind, besteht. Die dritte besteht aus einer stärker gelblich gefärbten Salzsäureschicht; die unterste Schicht, welche nur

einen kleinen Teil des Endkonus eines Zentrifugiergläschens einnimmt, besteht aus den unlöslichen Teilen der Faeces (Zellulose, Muskelfasern u. a.) und aus Fremdkörpern, so z. B. Parasiteneiern.

Diese Methode wendete ich immer bei den folgenden Untersuchungen an und erzielte damit sehr gute Resultate; auch vermied ich dadurch verschiedene Nachteile der gewöhnlichen mikroskopischen Untersuchung.

Ich untersuchte mit ihr die Faeces von Menschen, die klinisch und anamnestisch niemals an Schistosomiasis japonica gelitten hatten, um den ganz sicheren Beweis zu erbringen, daß sie frei von Parasiten seien; dann untersuchte ich abermals 50—60 Tage nach dem Auftreten der Dermatitis die Faeces der obengenannten Menschen. Wenn man nur einen Menschen, welcher 50—60 Tage nach dem mäßigen Auftreten der Dermatitis kein Ei in den Faeces hat, findet, so könnte man sagen, daß er frei von den Schistosomum ist, und daß die Dermatitis nicht von der Infektionspforte stammt. Zu diesem Zwecke nahm ich Ende Juni, etwas vor Bearbeitung des Reisfeldes, eine Massenuntersuchung von 123 klinisch gesunden Menschen vor, um einen sicheren Anhalt zu gewinnen. Zu meiner Verwunderung fand ich darunter nur 49 Schistosomum freie Menschen, etwa 40 Proz., während die übrigen, etwa 60 Proz., Parasiteneierträger waren. Ich machte ein zweites Mal die Faecesuntersuchung dieser oben erwähnten 49 Personen im September, 60 bis 70 Tage nach dem Auftreten der Dermatitis, und fand 19 neu infizierte Menschen; die übrigen 30 dagegen waren ganz infektionsfrei. Die 19 unter den 30 von der Neuinfektion frei gebliebenen Personen litten an Dermatitis an den unteren und oberen Extremitäten in verschiedenem Grade. Wie kann man nun die letztere Erscheinung erklären, wenn man die Dermatitis für einen Primäraffekt der Schistosomum-Infektion hält? Meine zweite Stuhluntersuchung wurde in der richtigen Zeit unternommen, wo die Eierentleerung des Schistosomum in die Faeces (50—60 Tage und etwas später nach der Infektion) am häufigsten ist. Unter den neu infizierten 19 Menschen litten nur 9 an Dermatitis, die übrigen 10 waren ganz frei davon.

Schon seit einigen Jahren betont man, daß die Dermatitis bei der Schistosomum-Infektion oftmals fehlen kann. Was verursacht nun diesen Unterschied, die Differenz der Haut bei den verschiedenen Individuen oder irgendeine Idiosynkrasie? Die oben erwähnten Tatsachen bestimmten mich, die Dermatitis nicht als den Primäraffekt der Schistosomum-Infektion zu betrachten.

B. Unsere eigenen Erfahrungen.

Bei verschiedenen Tierversuchen im Jahre 1911 mußten wir, mein Assistent und ich, unvermeidlich an den unteren Teilen der Arme mit dem infizierten Bachwasser in Berührung kommen. Im Anfange, am 2. Tage, klagte mein Assistent über ein abnormes Gefühl an den Armen mit heftigem Juckreiz, besonders in der Nacht, und bekam am 3. Tage etwa 50—60 typische, dermatitische Ausschläge unter leichtem allgemeinen Unwohlsein. Ich selbst bekam ebenfalls 3 Ausschläge an der inneren Seite des linken Unterarmes. Alle diese dermatitischen Ausschläge verkleinerten sich unter normalem Verlauf während einiger Tage allmählich und verschwanden nach ca. 10 Tagen fast vollständig. Wenn ein Hund etwa 50—60 Schistosomen im Pfortadersystem als Parasiten hat, so beginnt die erste Eierentleerung in die Faeces etwa am 30. Tage nach der Infektion, der Stuhl wird allmählich schleimig, endlich schleimigblutig bei heftigem Tenesmus ungefähr am 60.—70. Tage und enthält

immer zahlreiche Eier, was eine Zeitlang andauert. Wenn der Hautausschlag ein Primäraffekt des Schistosomum wäre, müßte mein Assistent durch mindestens 50—60 Würmchen angegriffen worden sein. Aber zu meiner großen Ueberraschung war die sorgfältige, mehrmalige Stuhluntersuchung auf Parasiteneier bis jetzt immer erfolglos; auch in meinem Stuhl war kein Ei zu finden. Nach eingehenden Forschungen fand ich die lehrreiche Tatsache, daß zahlreiche Schistosomiasiker früher fast niemals an dermatitischen Ausschlägen gelitten hatten, und daß die Bauern, die an Dermatitis alljährlich ziemlich heftig gelitten hatten, klinisch und anamnestisch kein Zeichen von Schistosomiasis hatten. Ich habe also keine Beziehung zwischen der Dermatitis und dem Primäraffekt der Schistosomum-Infektion gefunden.

C. Versuche an meinen Dienern.

Im Juli 1911 tauchte sich mein Diener (ein Stadtbewohner, der früher fast niemals in der Landwirtschaft beschäftigt war) in verschiedenes Bachwasser oder in frisch bewässerte Reisfelder, täglich 30 Minuten oder 1 Stunde lang, aber ohne Erfolg; Ende August aber fand ich in seinem Stuhl eine mäßige Zahl von Schistosomum-Eiern. Ein anderer Diener tauchte unfreiwillig einige Male, aber nur auf kurze Zeit, in Bachwasser und bekam über 10 Ausschläge an den Händen und Beinen. Er hatte schon einige Merkmale der Schistosomiasis, weswegen die Schistosomum-Eier in dem danach entleerten Stuhle für mich keine Bedeutung hatten. Endlich konnte ich in der Aetiologie der Dermatitis nicht nur individuelle Verschiedenheiten der Hautresistenz, sondern auch Idiosynkrasie finden, denn es wird der eine alljährlich ziemlich heftig von Dermatitis befallen, während der andere fast immer verschont bleibt.

D. Vorhandensein der Dermatitis außerhalb der Schistosomiasisgegenden.

Nach Beratung mit meinem Freunde, Herrn Dr. Ihida, fand ich dieselben dermatitischen Ausschläge in Higashiyatsushirogori Kitayatsushiro-mura in der Provinz Yamanashi, aber außerhalb der Schistosomiasisgegend. Hier fand ich keine Schistosomiasispatienten unter den Bauern, was auch die Angabe des Herrn Ihida, der Arzt in dieser Gegend ist, bestätigte. Diese Tatsache beweist, daß die Dermatitis in keiner Beziehung zum Primäraffekt der Schistosomum-Infektion steht.

E. Befunde des Hautpräparates des infizierten Tieres.

In den die jüngsten Würmer von Schistosomum japonicum zur Zeit der Hautinvasion enthaltenden Hautschnittpräparaten fand ich fast kein Zeichen von Entzündung neben den Würmern; die Epithelien und Bindegewebsfasern waren nur mechanisch verschoben, Rundzelleninfiltration und Hyperämie fehlten. Die an Dermatitis erkrankte Hautstelle fixierte ich in 8-proz. Formalinlösung, zerlegte sie in Schnitte und untersuchte sie unter dem Mikroskop, wo sich folgendes zeigte: stark verdünnte Hornschicht, nur einige Schichten von Plattenepithelien, direkt darunter die Malpighische Schicht mit verstrichenen Papillen, in dem Corium stark gefüllte, strotzende Kapillaren, Sugillationen und so dichte Rundzelleninfiltration, daß die affizierte Hautpartie leicht vorgewölbt war. Die Entzündung griff ins subkutane Gewebe über. In veralteten, entzündlichen Herden sah ich etwas Bindegewebshypertrophie. In den ganzen dermatitischen Herden habe ich aber niemals Fremdkörper oder jüngste Würmer des Schistosomum zur Zeit der Infektion gefunden; das Ganze zeigte sich als eine reaktive Entzündung

auf irgendeinen Reiz. Das ist mein 5. Grund, weshalb ich die Dermatitis nicht für den Primäraffekt der Schistosomum-Infektion halten kann.

Jetzt will ich nicht mehr auf die eigentliche Ursache der Dermatitis, sondern auf den Zusammenhang zwischen Dermatitis und der Eingangspforte des Schistosomum eingehen. Aus den oben mitgeteilten Forschungsresultaten ist zu entnehmen, daß der Hautausschlag kein Primäraffekt der Schistosomum-Infektion ist, da er keine durch mechanische Reizung der jüngsten Würmer verursachte reaktive Entzündung ist. Hier will ich nur kurz hinzufügen, daß die Dermatitis einige charakteristische Punkte bot; sie trat zerstreut auf, war am dichtesten an den mit der Wasseroberfläche in Berührung gekommenen Stellen, die man vor Affizierung durch dichtere Tuchbedeckung schützen konnte. Die Dermatitis wird daher nicht nur durch chemische, sondern auch durch mechanische (irgendein Mikroorganismus außer dem Schistosomum japonicum) Reize verursacht.

II. Beiträge zur Kenntnis der Schistosomum-Infektion.

a) Die orale Infektionsmöglichkeit des Schistosomum japonicum.

Es ist eine ganz unzweifelhafte Tatsache, daß der Infektionsmodus des Schistosomum japonicum der kutane ist. Dagegen stimmen die Ansichten darüber noch nicht überein, daß eine orale Infektion absolut nicht vorkommt. Seit einigen Jahren führten verschiedene Forscher verschiedene Tierversuche aus, besonders an Hunden und Rindern, und zwar vielleicht bei gesundem Digestionskanale. Die Resistenzkraft des gesunden Magendarmkanals des Tieres, besonders der Hunde, ist so enorm groß, daß die Choleravibrionen in Reinkultur erst typische Krankheitsveränderungen hervorrufen nach Neutralisierung der freien Salzsäure des Magens mit Sodalösung und Herabsetzung der Darmperistaltik durch orales Einnehmen von Opiumtinktur. Die Schistosomum-Würmer (sowohl Adultorum als auch Miracidium, wenn auch das Miracidium keine Infektionsform ist), sind gegen Salzsäure ziemlich empfindlich, weswegen man im künstlich oder natürlich erkrankten Magendarmkanal verschiedene orale Infektionsversuche ausführen muß.

α) Durch Eingießen von größeren Mengen Alkohol in den Magen des Hundes erzielte ich eine akute Magendarmstörung, welche aber an dem schon vorher erkrankten Digestionstraktus durch akute Reizung hervorgebracht sein konnte. Ich gab No. I (10 kg Körpergewicht) 100 ccm gewöhnlichen Alkohol, No. II (etwa 8 kg K.-G.) 100 ccm gewöhnl. Alk., No. III (etwa 7 kg K.-G.) 80 ccm gewöhnl. Alk., No. IV (etwa 8 kg K.-G.) 50 ccm doppelt verdünnten gewöhnl. Alk., No. V (etwa 7 kg K.-G.) 40 ccm doppelt verdünnten gewöhnl. Alk., No. VI und No. VII waren Kontrolltiere. 2—3 Stunden nach dem Eingießen des Alkohols entleerten die Versuchshunde mehrmals ganz unwillkürlich den Harn und taumelten 17—18 Stunden hin und her. No. I war ziemlich stark entkräftet und ging nach 1 Woche unter Marasmus zugrunde. Bei der Sektion fand ich immer einen ziemlich heftigen katarrhalischen Zustand des Digestionskanals, sehr stark hyperämische, angeschwollene Schleimhaut, reichlichen Schleim, 3 kleinfingerspitzengroße, frische Geschwüre am oberen Teil des Dünndarmes, so daß die Todesursache dieses Hundes ohne Zweifel eine akute Magendarmstörung sein mußte. Den übrigen 4 Hunden goß ich durch Vermittelung des Magenschlauches mit einer

Mundklammer infiziertes Bachwasser in den Magen, und zwar 500 bis 1500 ccm auf einmal, je nach der Größe des Hundes, täglich 1—3 mal. Das Versuchsbachwasser war vorher gut aufgerührt und durch Beimischungen der Flußniederschläge getrübt. Die ganze Menge des verwendeten Bachwassers betrug bei No. II 20000 ccm, bei No. III 10700 ccm, bei No. IV 4800 ccm und bei No. V 4000 ccm; bei der nach einiger Zeit vorgenommenen Sektion der Hunde konnte ich keine Parasiten im Pfortadersystem finden. No. VI und VII, die beiden Kontrolltiere, tauchte ich an denselben Stellen des Baches ein, an denen ich das oben erwähnte Versuchswasser entnommen hatte, und zwar während 7 Tagen täglich 4—6 Stunden, im ganzen also etwa 40 Stunden. Bei der Sektion fand ich später ziemlich zahlreiche Schistosomen im Pfortaderblut.

β) Bei den an natürlichen Magendarmstörungen erkrankten 2 Hunden nahm ich die gleiche Manipulation vor; im ganzen benutzte ich vom Wasser bei No. I 10400 ccm, bei No. II 8600 ccm. Bei der Sektion fand ich leider keine Parasiten im Pfortadersystem, aber ziemlich zahlreiche Vernarbungen im Dünndarm.

γ) Das Adultorum des Schistosomum und das Miracidium, wenn sie auch keine Invasionsform zur Zeit der Hautinfektion sind, sind bekanntlich sehr empfindlich gegen Säuren, besonders gegen Salzsäure. Zur Neutralisierung der Salzsäure im Magen goß ich 2-proz. Sodalösung 15—20 Minuten vor dem Wasser ein und injizierte 30—40 Minuten nach der Operation subkutan Morphium muriaticum oder Opiumtinktur, so daß die Darmperistaltik sehr träge und die Harnentleerung verspätet wurde; vielleicht wurde wegen der langsamen Resorption des eingegossenen Wassers die Magendarmwandoberfläche lange Zeit berührt.

Diese Manipulation wendete ich nicht nur bei den Gruppen a und b, sondern auch bei 2 neuen Versuchstieren an, jedoch immer erfolglos.

Bei gesunden Versuchstieren, Hunden und Rindern, fiel die orale Infektion vollständig negativ aus; auch bei meinen verschiedenen erkrankten Tieren bekam ich ein gleiches Resultat, so daß ich den oralen Infektionsmodus des Schistosomum japonicum in allen Körperzuständen, besonders denen des Magendarmkanals, streng negieren kann, leider aber kann ich nicht erklären, warum die orale Infektion nicht vorkommt. Später will ich in diese Frage noch tiefer eindringen.

b) Kommen im strömenden Wasser im Flußbette oder im Flußschlamme die jüngsten Würmer des Schistosomum japonicum gewöhnlich am häufigsten vor?

Diese Frage ist von einer gewissen praktischen Bedeutung, besonders für die Prophylaxe der Schistosomiasis. Um sie zu lösen, nahm ich folgendes Experiment mit drei Gruppen von Versuchstieren vor:

1) „2 gesunde Versuchshunde setzte ich in 2 hölzernen Kästen, welche an den Seitenwänden ziemlich große und zahlreiche Löcher enthielten, und ließ diese Kästen in strömendes Wasser über dem Flusse hängen, um die Läufe der Hunde absolut nicht mit dem Flußbette in Berührung zu bringen; das Flußwasser strömte natürlich durch die Löcher der Kästen ganz gut ein und aus. Nach 13 Stunden langem Eintauchen fand sich der erste durch 46 Würmer, der zweite durch 40 infiziert.

2) 2 andere Hunde ließ ich, wie gewöhnlich, mit den Läufen direkt das Flußbett berühren, und zwar unterhalb der ersten Gruppe, und fand nach gleich langem Eintauchen etwas mehr Parasiten als bei der ersten Gruppe, nämlich beim ersten Hunde II 8 Würmer, beim zweiten 95.

3) Noch weiter unterhalb des Flusses tauchte ich gleich lange Zeit die Läufe von 2 anderen Hunden etwas tief in den Flußschlamm; ich fand beim ersten 120 und beim zweiten 69 Parasiten, fast wie bei der zweiten Gruppe."

Obgleich ich zu dieser Studie nicht viele Versuchstiere verwendet habe, möchte ich doch daraus folgenden Schluß ziehen: Die jüngsten Würmer des Schistosomum japonicum scheinen mehr am Flußbette als im strömenden Wasser vorzukommen, wogegen im Schlamme selbst keine merkbare Zunahme zu konstatieren ist; sie verbreiten sich durch Vermittelung des fließenden Wassers immer mehr nach anderen gesunden Gegenden, und es ist gegen sie nur ein Desinfektionsmittel wirksam, welches nicht nur auf das strömende Wasser, sondern auch auf den Flußschlamm wirken kann.

c) Existieren in den Reisfeldern oder in den Bächen zahlreichere Krankheitserreger?

In frisch bewässerte Reisfelder tauchte ich 2 Hunde, deren einer nach 2-stündigem Eintauchen nur 2 Würmer im Pfortaderblut hatte, während der zweite nach $12^1/_2$-stündigem Eintauchen mit nur 4 Würmern infiziert wurde; dagegen wurde der in den benachbarten Bach gleichlange eingetauchte Hund durch etwa 40 Würmer infiziert. Durch dieses Experiment wird es klar, daß die Krankheitserreger viel zahlreicher in Bächen als in den Reisfeldern vorhanden sind, auch in frisch bewässerten Reisfeldern kommen sie zahlreicher vor.

d) Die Infizierbarkeit mit dem Schistosomum japonicum in feuchter Erde.

Ich wählte ein trockenes Reisfeld, durch das in der Nähe des Versuches kein Bachwasser floß. Als dieses trockene Reisfeld nach einem Regen sehr weich und schlammartig wurde, grub ich die Erde etwas weit aus, stellte in das Loch 2 Hunde und bedeckte ihre Läufe mit täglich gewechselter Erde, und zwar an jedem Tage 5—6 Stunden lang, im ganzen 51 Stunden. Nach einer bestimmten Zeit fand ich bei 2 Versuchshunden kein Schistosomum im Pfortaderblut, dagegen hatten Ankylostomen durch die feuchte Erde den Wirt infiziert; die kutane Invasion der Larven erwies sich als eine sehr starke. Der eine von den 2 Versuchshunden wurde besonders stark von den Ankylostomen infiziert und ging nach 25 Tagen daran zugrunde, der andere war ebenfalls ziemlich stark infiziert.

e) Die prophylaktische Wirkung des Chininum muriaticum.

Bei Tierversuchen, besonders bei frisch erkrankten Hunden, wurde die Heilwirkung des Chininum muriaticum nur in größerer Dosis gegen Schistosomiasis, besonders seine Abtötungskraft auf die Würmer außer von einigen anderen Forschern auch von mir bestätigt. Um die prophylaktische Wirkung des Chininum muriaticum zu bestimmen, machte ich bei 3 Hunden folgenden Versuch: 2 Tage vorher ließ ich No. I täglich 1 g Chininum muriaticum (fast die maximale Dosis für einen Hund) einnehmen, No. II täglich 0,15 (die gleiche Proportion pro Kilogramm des Körpergewichtes, wie bei der fast maximalen Dosis für Menschen) und No. III täglich 0,3 (doppelt soviel wie bei No. II); diese wurden dadurch „chininisiert". Etwa 2 Stunden vor dem Eintauchen gab ich ebenfalls eine fast gleiche Dosis Chininum muriaticum, fand aber bei der Sektion keine prophylaktische Wirkung.

f) Schutzkraft etwas dicht gewebten baumwollenen Tuches.

Die jüngsten Würmer des Schistosomum japonicum sind zur Zeit der Hautinvasion 40 μ lang und 15 μ breit, darum könnte Tuch, dessen Maschen etwas geringeren Durchmesser als die Körper der Würmer haben, mehr oder weniger vor der Infektion schützen. Der Durchmesser einer Masche des etwas dicht gewebten Tuches aus Baumwolle, das ich benutzte, beträgt etwa 40—90 μ, aber in jeder Masche befinden sich zahlreiche, gekreuzte, feine Fäden. Um die Schutzkraft der Kleidung aus Baumwolle zu bestimmen, tauchte ich die ganz dicht mit einem Tuch aus Baumwolle umwickelten 2 Hunde etwa 34 Stunden lang in Bachwasser; von diesen wurde der eine durch 15 Würmer, der andere durch 25 und der Kontrollhund durch 69 Würmer infiziert. So wurde meine Vermutung tatsächlich bestätigt.

Zusammenfassung.

1) Die Dermatitis, welche in Schistosomiasisgegenden vorkommt, zeigt einige Eigentümlichkeiten, doch ist ihre Ursache bis jetzt vollständig unklar.

2) Ich fand, daß die modifizierte Telemannsche Methode, bei welcher die Zerstörung der Parasiteneier eine geringe ist, die Eier ziemlich gut anreichert und daß bei ihr die Gefahr einer Explosion ausgeschlossen ist.

3) Von 49 Personen, bei welchen keine Schistosomum-Eier bei der ersten Untersuchung gefunden worden waren, wurden 19 nach 50—60 Tagen, besonders nach Ackerarbeiten, infiziert. Von diesen 19 infizierten Fällen wurde Dermatitis bei 9 und von den übrigen 30 nicht infizierten auch bei 19 beobachtet. Daraus folgt also, daß die Dermatitis häufiger bei den eierfreien Individuen vorkommt als bei den Eierträgern.

4) Mein Assistent und ich litten im Jahre 1911 an Dermatitis, aber bis jetzt sind keine Eier im Kote gefunden worden.

5) Obgleich mein Diener seinen Körper bald in einen Bach, bald in ein Reisfeld tauchte, wo die Erreger der Dermatitis vorkommen sollen, trat wider Erwarten keine Spur von Dermatitis an irgendeinem Körperteile auf, dagegen litt er dann an Schistosomiasis japonica.

6) In von Schistosomiasis freien Gegenden wird die gleiche Dermatitis beobachtet.

7) Die histologischen Befunde bei dieser Dermatitis sind ganz andere als bei der Haut, welche jüngste Würmer enthält; bei der ersteren ist keine Spur von Durchpassierung der Würmer nachweisbar. Aus den oben erwähnten Beobachtungen ist also zu schließen, daß zwischen der Dermatitis und der Schistosomiasis japonica keine ursächliche Beziehung besteht.

8) Durch Eingießen einer großen Menge gifthaltigen Wassers in den Magen gelingt es, weder bei Hunden, bei welchen eine künstliche akute Magendarmstörung hervorgerufen wurde, noch bei den erkrankten Schistosomiasis japonica zu verursachen.

9) Die jüngsten Würmer des Schistosomum japonicum scheinen mehr im Flußbette zu existieren als im fließenden Wasser; im Schlamme selbst ist keine merkbare Zunahme festzustellen.

10) An feuchten Orten wird Schistosomum-Infektion nicht beobachtet; sie scheint nur auf Orte, wo reichliches Wasser vorhanden ist, beschränkt zu sein.

11) Die Krankheitserreger kommen erheblich zahlreicher in Bächen als in den Reisfeldern vor; das gleiche ist auch in frisch bewässerten Reisfeldern der Fall.

12) Chininum muriaticum hat keine prophylaktische Bedeutung bei der genannten Krankheit.

13) Dagegen schützt ein dicht gewebtes Tuch aus Baumwolle mehr oder weniger vor der Infektion.

Zum Schlusse kann ich es mir nicht versagen, dem hochverehrten Herrn Prof. Dr. T. Irisawa für seine ständige Unterstützung bei der Ausführung dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Nachdruck verboten.

Peptotoxin production by the bacillus of contagious abortion of cattle[1]).

[The Mulford Laboratories, Glenolden, Pennsylvania.]

By **John Reichel**, V. M. D., and **Malcolm J. Harkins**, V. M. D.

Bang and Stribolt (1) of Denmark in 1896 proved that the bacillus of contagious abortion is the cause of contagious or infectious abortion of cattle, MacFayden and Stockman (3) in 1909 in England, Zwick (2) in Germany, and MacNeal and Kerr (4) in the United States in 1910. The specificity of the bacillus was further proved by Good (5), and Giltner (6) in 1911, in isolating the bacillus from aborted material from infected cattle, and by Larsen (7), Hadley and Beach (8), and Surface (9), with the complement fixation test. The discovery by Schroeder and Cotton (10) of the bacillus in the milk of cows in infected herds added another chapter to the prevalence of the infection, and the lesions produced by the bacillus in guineapigs, described in detail by Smith and Fabyan (11) to its pathogenicity.

The English Commission (3) demonstrated that the infectivity of a strain with subsequent abortion is more certain when injected intravenously into pregnant cattle. Thus far it is believed that any of the warm blooded pregnants animals can at least be experimentally infected in this way. Pregnant rabbits and guineapigs are used with advantage in passing the bacilli through animals to keep up their virulence. In an attempt to pass a strain "Cult. W" (12) of unknown virulence through

1) Read at the meeting of the Society of American Bacteriologists held at the Rockefeller Institute for Medical Research, NewYork, January 2, 1913, and the Philadelphia, Pathological Society, January 23, 1913.

a normal pregnant heifer the following was experienced: Heifer 2425 proved free of the infection by the complement fixation and agglutination tests, was injected intravenously with 5 c. c. of 0,85% sodium chloride solution suspension of the bacilli from 2 neutral glycerine peptone agar cultures, 48 hours old. Five days, or exactly 120 hours later, 30 c. c. of a suspension prepared with a growth of the same age and media were injected intravenously, and was followed in less than one minute by alarming symptoms. At the end of 15 minutes, the animal being prostrate, and apparently in a dying condition, both carotid arteries were cut and the animal bled to death. Immediately after death the pregnant uterus, with its fetus of about 3 months, was ligated posterior to the os and removed intact. Typical uterine changes, as seen in naturally infected cows, apparently confined to the cotyledons were subsequently demonstrated, from which the bacilli were isolated in pure culture. Cultures from material elsewhere in the uterus and fetus remained sterile. The infection of this animal within 5 days is of special interest in that the English Commission (3) failed entirely to infect a Heifer 17 days before calving. In that the first 5 c. c. injection of the suspension of bacilli were administered intravenously without any observable disturbances, the exceedingly alarming symptoms following the second injection were not understood.

The English Commission (3) noted the symptoms shown by Heifer 172 within 10 minutes following an intravenous injection of 10 c. c. of a glycerine broth-serum culture of the bacillus. They also observed the symptoms of Heifer 109, following the second intravenous injection, of which they state, "ten minutes after inoculation her breathing became distressed. She seemed very uneasy and passed feces and urine at very short intervals. This reaction to the second dose, which was looked upon at the time as an example of anaphylaxis, lasted 20 minutes". After demonstrating that a filtrate, sterilized by filtering a culture of the bacillus, would not produce an appreciable effect in infected animals in 20 c. c. doses injected subcutaneously, the English Commission concludes, "apparently however no free toxins are formed by the bacillus in cultures".

The reaction in infected cattle usually appreciable by a rise of temperature etc., in from 8 to 18 hours after a subcutaneous injection of abortin, i. e. an extract of the bacillus and its products prepared as is tuberculin with tubercle bacilli, is generally attributed to toxins, of which the English Commission (3) remarks, "the toxins, then, which cause the febrile symptoms after inoculation are endotoxins, that is to say, they are contained inside the bacilli". From this it may be taken that the opinion is held that the bacilli in cultures form no other toxins than endotoxins.

To prove that the symptoms shown by Heifer 2425 were not accidental, 2 other normal pregnant Heifers, 2437 and 2438, were each injected intravenously with 5 c. c. of a suspension of the bacilli similar to that used in Heifer 2425. Heifer 2437, immediately following the injection, extended her head, coughed several times, but otherwise continued normal. Heifer 2438 showed nothing unusual. Five days, or approximately 122 hours later, Heifer 2438 received 10 c. c. of a suspension of abortus bacilli, containing approximately 6550 million bacilli per c. c., grown on neutral glycerine peptone agar for 48 hours. Within 20 seconds the heifer went down, showing the

following reaction, which may be considered typical: Slight quivering of the muscles of the hind quarters, shoulders, or other parts of the body, lasting but a few seconds; sudden collapse and prostration; the head thrown back in an apparent attempt to straighten out the air-passages, mouth open, tongue relaxed, and hanging out, and moving back and forth; the legs extended rigidly but flexible; reflexes normal; mucous membrane noticeably paler; feces and urine likely to be voided in small amounts; pulse noticeably weakened and for a time imperceptible over the inferior maxilla, rate however not greatly affected. The reaction is most striking in the change in the respiration and this may be the only change observable in a slight reaction. In a pronounced reaction the respiratory movements are modified with the collapse. A slight slowing up may be observed before the rapid increase in a few minutes, from the normal rate of 18 to 48 to 90 to 120 per minute. The movements, together with the increase in number, are full; the intercostal and abdominal muscles being brought into play. The blowing respiration is accompanied by a pronounced back-and-forth body swaying. A clearing cough is likely to develop with a noticeable increase in the secretions of the mucous membrane of the nasal passages and presumably of those further back. Lacrimation is noticeably increased. Gradual recovery follows soon after the collapse. Without assistance the animal first regains a half dorsal position and soon rises, much depressed. The body-swaying and blowing respiration continue longer than the increase in the respiratory movements. The reaction may disappear within a few minutes or linger several hours. The animal may continue somewhat depressed for 24 hours following a decisive reaction. However pronounced the reaction recovery begins promptly, and we are now of the opinion that the first Heifer 2425 would have made a recovery except for our interference. An overwhelming dose however, will probably cause death by respiratory arrest.

Having succeeded in proving that the symptoms shown by Heifer 2425 were not accidental, Heifer 2438 (Table I), and 2437 (Table II), were subsequently injected in order to determine the cause or causes of the reaction.

In this connection considerable assistance was obtained from the work in the Laboratory of M. Metchnikoff by Besredka and Ströbel (13) on typhoid anaphylotoxin, during which the discovery was made that there is a striking resemblance between the anaphylatoxin of the Bacillus typhosus, prodigiosus, tuberculosis, etc. The control experiments revealed the fact that fresh guineapig serum added to ordinary uninoculated peptone agar, gave rise in 24 hours to a toxic product for which the name peptotoxin was proposed. Inactivated guineapig serum (heated to 56° for 30 minutes) on uninoculated peptone agar for 24 hours failed to produce the peptotoxin. Fresh guineapig serum in uninoculated peptone free agar for 24 hours resulted in no peptotoxin formation. It was also shown that the toxic product in question was rendered nontoxic after heating for 30 minutes at 65° C. The conclusion is tentatively drawn that anaphylatoxin and peptotoxin are probably identical (16).

In the second injection of Heifer 2437 (Table II) the suspension of bacilli, Lot II, consisted of a portion of the growth with which the second dose for Heifer 2438 was prepared. Instead of using the original suspension the bacilli were centrifugalized and washed 5 times with 0,85% sodium chloride solution. No reaction followed injection 2, of

Table I.
Injections of Heifer No. 2438 (Jersey Grade).

Date	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remark
1912	A.M.						
10/30	10.15	.	.	102.1	No. 1 Intrav.	5 c. c. susp. glyc. peptone agar cult. living abortus bacilli. Lot I	.
	10.25	.	.	.	.	.	Apparently normal
1912	P.M.						
11/5	12.02	90	32	101.8	No. 2 Intrav.	10 c. c. susp. glyc. peptone agar cult. living abortus bacilli. (Each c. c. 6550 mill. bac.) Lot I	Prostrated in 20 seconds
	12.04	72	88	.	.	.	No struggling; legs extended
	12.08	.	108	102	.	.	Up to half dorsal position
	12.12	.	104	.	.	.	Slight cough, body swaying, blowing respiration
	12.17	.	60	101.8	.	.	Up without assistance, depressed
	12.28	90	58	.	.	.	Resp. short jerkey, pulse weak
	2.30	90	48	101.2	.	.	Aside from slight depression apparently normal
1912	A.M.						
11/8	9.00	96	48	102.7	.	.	.
	9.04	.	.	.	No. 3 Intrav.	10 c. c. solution alcoholic precipitate	.
	9.05	60	90	.	.	.	Staggering
	9.06	.	78	102.6	.	.	.
	9.08	78	84	.	.	.	Legs spread apart, body swaying, blowing respiration
	9.12	78	84	103.2	.	.	.
	9.16	.	78	.	.	.	Body swaying, blowing respiration
	9.47	90	54	103.3	.	.	Body swaying, slight intermittent cough, blowing respiration
	11.05	.	.	.	.	.	Depressed, slight blowing respiration
1912	P.M.						
11/23	12.40	90	35	101.8	.	.	.
	12.48	.	38	.	.	.	.
	12.53	.	.	.	No. 4 Intrav.	80 c. c. susp. living abortus bacilli grown in peptone free media (249 mill. bac. per c. c.) (Uschinsky's media) Lot V	.
	12.54	90	36	.	.	.	.
	12.57	.	40	.	.	.	.
	1.00	90	48	102.6	.	.	.
1912	P.M.						
11/23	1.26	96	40	102.6	.	.	Animal apparently normal

Date	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remarks
1912	P.M.						
11/23	1.30	96	38	102.8	.	.	.
	1.32	.	42	.	No. 5 Intrav.	10 c. c. susp. abortus bacilli subculture from peptone free media to glyc. peptone agar. Incubated 96 hrs. Lot VI	Animal prostrated in 20 seconds
	1.33	.	90	.	.	.	Body swaying, blowing respiration
	1.38	.	112	102.8	.	.	Pulse imperceptible
	1.41	.	106	102.9	.	.	.
	1.44	90	102	102.9	.	.	Pulse very weak
	1.50	.	100	.	.	.	Cough, animal made to rise with assistance
	1.53	.	58	102.3	.	.	Body swaying, blowing respiration
	2.20	.	38	.	.	.	.
	3.20	.	.	.	.	.	Apparently normal
1912	P.M.						
11/25	1.25	90	30	.	.	.	.
	1.27	.	.	.	No. 6 Intrav.	10 c. c. solut. of alcoholic precipitate. Lot III	Animal prostrated 23 seconds
	1.28	.	108	99	.	.	Feces passed, lacrimation, pulse imperceptible
	1.32	.	84	.	.	.	.
	1.34	.	.	.	.	.	Up to half dorsal position, blowing respiration
	2.53	.	.	.	.	.	Apparently normal
	P.M.						
11/27	1.45	.	30	.	.	.	.
	1.46	.	.	.	No. 7 Intrav.	10 c. c. solut. alcoholic precipitate. Lot III	.
	1.47	.	76	.	.	.	Animal noticeably weakened in hind quarters, urine voided, blowing respiration
	1.48	.	84	.	.	.	Lacrimation, small passage of feces, tears rolling over jaw
	1.51	.	100	.	.	.	Nasal secretions increased, body swaying, blowing respiration, drooling of saliva
	1.53	.	106	.	.	.	.
	2.06	.	90	.	.	.	Body swaying, blowing respiration
	2.15	.	63	.	.	.	Drooling of saliva, blowing respiration
	2.26	.	54	.	.	.	Intermittent cough
	2.50	.	30	.	.	.	Apparently normal
1912	P.M.						
12/16	3.37	96	24	101.2	.	.	.
	3.38	.	.	.	No. 8 Intrav.	10 c. c. susp. glyc. peptone agar cult. pneumococci. Lot VII	Prostrated in 20 seconds
	3.39	.	78	.	.	.	.

Date	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remarks
1912	P.M.						
12/16	3.45	.	96	.	.	.	Pulse imperceptible
	3.47	.	84	101.4	.	.	Body swaying blowing respiration
	3.55	.	96	.	.	.	Up to half dorsal position without assistance. Respiration Labored, defecated
	3.58	.	90	101.1	.	.	Up without assistance, weak, feces passed with mucous
	4.35	.	60	101.2	.	.	Depressed
	4.50	.	30	.	.	.	.
	5.00	.	.	.	.	.	Apparently normal

Table II.

Injections of Heifer No. 2437.

Date	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remarks
1912	A.M.						
10/30	10.20	.	.	102	No. 1 Intrav.	5 c. c. susp. glyc. peptone agar cult. abortus bacilli (living). Lot I	.
	10.30	.	.	.	.	.	Apparently normal
1912	P.M.						
11/5	2.37	78	24	100	.	.	.
	2.40	.	.	.	No. 2 Intrav.	30 c. c. susp. living washed abortus bacilli (1728 mill. per c. c.). Lot II	.
	2.42	78	24	100	.	.	.
	2.52	78	24	100	.	.	No symptoms or change
1912	P.M.						
11/5	3.52	90	36	101.8	.	.	.
	3.56	.	.	.	No. 3 Intrav.	5 c. c. susp. 48 hrs. growth on glyc. peptone agar of abortus (bac. (6550 mill. per c. c.). Lot I	.
	3.57	78	90	.	.	.	Continous cough
	4.02	78	84	.	.	.	Intermittent cough
	4.05	.	66	102	.	.	.
	4.30	.	.	.	.	.	Apparently normal
1912	A.M.						
11/8	10.47	90	36	102.4	.	.	.
	10.48	.	.	.	No. 4 Intrav.	10 c. c. sol. alcoholic precipitate. Lot III	Staggered, and collapsed in 23 seconds
	10.50	90	.	103	.	.	Blowing resp., cough. Unable to regain feet with assistance
	10.52	.	94	.	.	.	Forced up to half dorsal position
	10.53	72	98	102.6	.	.	Body swaying, blowing respir.
	10.56	.	96	.	.	.	Up unassisted, weak
	11.03	90	92	103.2	.	.	.
	11.08	84	60	102.9	.	.	Heifer had no desire to move. Noticeably depressed

Date	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remarks
1912	P. M.						
11/23	1.05	90	48	102.8	.	.	.
	1.08	.	48	.	No. 5 Intrav.	10 c. c. heated sol. alcoholic precipitate. Lot IV	Prostrated 20 seconds
	1.09	.	112	.	.	.	.
	1.11	.	.	101.8	.	.	Cough, lacrimation
	1.13	.	113	.	.	.	.
	1.16	.	112	103.5	.	.	Feces and urine voided. Violent cough, blowing respir.
	1.19	.	108	.	.	.	Up to half dorsal position, cough
	1.23	.	110	.	.	.	Up unassisted
	1.25	84	105	103.5	.	.	.
	1.38	.	90	.	.	.	Blowing respiration. Body swaying
	1.51	90	66	103.5	.	.	.
	2.28	.	50	.	.	.	Apparently normal
1912	P. M.						
11/23	2.30	78	50	104.2	.	.	.
	2.31	.	.	.	No. 6 Intrav.	10 c. c. sol. alcoholic precipitate. Lot III	Down in half dorsal position in 35 seconds
	2.32	.	100	.	.	.	Blowing resp. and cough
	2.35	.	104	103.8	.	.	Pulse imperceptible
	2.38	96	96	.	.	.	Pulse weak; cough
	2.40	100	96	104	.	.	Up unassisted
	3.00	96	79	104	.	.	.
	3.20	96	58	104	.	.	Cough; depressed
	4.05	.	54	.	.	.	Apparently normal
1912	P. M.						
11/25	1.19	90	30	101.6	.	.	.
	1.21	.	.	.	No. 7 Intrav.	10 c. c. sol. alcoholic precipitate. Lot III	.
	2.30	.	.	.	.	.	No symptoms or changes observed
1912	P. M.						
11/27	1.55	.	30	.	.	.	.
	2.00	.	.	.	No. 8 Intrav.	10 c. c. heated sol. alcoholic precipitate. Lot IV	Down to half dorsal position in 30 seconds
	2.02	.	106	.	.	.	Blowing respir. Body swaying
	2.03	.	106	.	.	.	Up unassisted; small passage of feces. Lacrimation
	2.05	.	90	.	.	.	Cough
	2.14	.	60	.	.	.	.
	2.45	.	30	.	.	.	Apparently normal
1912	P. M.						
12/17	1.56	90	33	102	.	.	.
	1.57	.	.	.	No. 9 Intrav.	10 c. c. susp. peptone agar growth of staphylococcus aureus (killed) Lot VIII	.
	1.59	90	30	.	.	.	.
	2.15		30	102.2	.	.	Apparently normal

Date	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remarks
1912	P. M.						
12/17	2.20	90	30	102.4	.	.	.
	2.21	.	.	.	No. 10 Intrav.	10 c. c. susp. peptone agar growth of non-hemolytic streptococci (killed). Lot IX.	.
	2.23	78	30	102.2	.	.	.
	2.30	78	30	102.2	.	.	Apparently normal
1912							
12/17	2.55	90	30	102	.	.	.
	2.56	.	.	.	No. 11 Intrav.	10 c. c. susp. peptone agar growth of hemolytic strept. (killed). Lot X	.
	2.59	90	30	102	.	.	.
	3.15	90	30	.	.	.	Apparently normal
1912	P. M.						
12/17	3.35	90	30	102.4	.	.	.
	3.37	.	.	.	No. 12 Intrav.	10 c. c. susp. living glyc. peptone agar culture abortus bacilli. (Cult. "W"). Lot I	.
	3.38	.	60	.	.	.	Blowing respir.; body swaying
	3.40	.	36	102.1	.	.	.
	4.00	96	30	.	.	.	Apparently normal

30 c. c. of the suspension of washed bacilli, whereas the animal responded 76 minutes later with a distinct reaction following injection 3 of but 5 c. c. of the original suspension of unwashed bacilli from a glycerine peptone agar culture, Lot I.

The injections made thus far proved conclusively that the first intravenous injection of a suspension of unwashed glycerine peptone agar culture of the bacillus of contagious abortion into apparently normal cattle, is not followed by a reaction, and that a second intravenous injection in 5 days of a similar dose is followed by a severe reaction, which may be entirely avoided, and larger doses administered when the bacilli are thoroughly washed.

Heifer 2437 received injection 4 of a solution of 10 c. c. alcoholic precipitate, Lot III; the 10 c. c. containing the precipitate in an equal amount of the original supernatant liquid. This was followed by a prompt reaction. Heifer 2438 responded to injection 3 of the same dose equally as well. This dose was followed in 15 days in Heifer 2437 by a similar dose heated to 65° C for 30 minutes, with a prompt and severe reaction showing that the sensitiveness of the animal has increased since the last injection, and that 65° C for 30 minutes did not destroy the peptotoxin. Injection 5 was followed by injection 6 in 85 minutes with a 10 c. c. dose of a solution of the unheated alcoholic precipitate, Lot III, which was followed by a distinct but less severe reaction. Another dose was included in injection 7, 48 hours later, which failed to produce any sign of a reaction, showing plainly that the animal as a result of the previous two injections was not sensitive at the time. Forty-eight hours later this animal did react but not as severely, to injection 8 of 10 c. c. of the

solution of the heated alcoholic precipitate, Lot III. After a lapse of 20 days three injections 9, 10 and 11 consisting of 10 c. c. doses of suspensions of Staphylococcus aureus, Lot VIII; nonhemolytic Streptococcus, Lot IX; hemolytic Streptococcus, Lot X; within several hours within reactions. That the animal was sensitive to peptotoxin at the time was shown by the reaction obtained, although mild, following injection 12 of 10 c. c. suspension abortus bacilli, Lot I.

The abortus bacillus was subcultured to Uschinsky's (15) peptone free media, and after two transplantations in this media, 80 c. c. of a suspension including 2049 million bacilli per c. c., Lot V, was used in injection 4 of Heifer 2438 without a reaction 15 days after injections. Thirty-nine minutes later injection 5 was made, including 10 c. c. of a suspension of the bacilli from 2 glycerine peptone agar cultures, Lot I, subcultured 96 hours before from Uschinsky's peptone free media cultures. This was followed by a prompt and severe reaction proving the animal was sensitive and that the bacilli do not produce peptotoxin in peptone free media. This animal was found responsive to that peptotoxin 48 hours later when injection 6, of 10 c. c. of the solution of the alcoholic precipitate, Lot III, was made and less responsive 48 hours later to a similar injection 7. Nineteen days later the presence of pepto-

Table III.
Injections of Bull calf No. 2460.

Date	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remarks
1912	A. M.						
11/8	9.25	102	48	102.8	.	.	.
	9.29	.	.	.	No. 1 Intrav.	10 c. c. solution alcoholic precipitate. Lot III.	.
	9.31	.	102	.	.	.	Blowing respiration, not severe
	9.32	.	120	103.2	.	.	.
	9.36	104	102	103	.	.	Blowing respiration, pulse weak, cough, body swaying
	9.37	84	84	103.4	.	.	.
	9.45	84	72	.	.	.	.
	9.50	.	.	103	.	.	Calf noticeably depressed
	P. M.						
11/23	2.07	120	48	103.1	.	.	.
	2.08	.	.	.	No. 2 Intrav.	10 c. c. solution alcoholic precipitate. Lot III.	Down in 20 seconds
	2.12	.	94	103.5	.	.	Blowing respiration, body swaying
	2.15	.	112	.	.	.	Defecated, up to half dorsal position unassisted
	2.17	.	.	103.5	.	.	Pulse imperceptible, cough
	2.21	.	.	.	.	.	Could not be made to rise
	2.22	.	105	103.4	.	.	.
	2.47	.	110	103.2	.	.	Pulse imperceptible
	2.51	.	.	.	.	.	Up with assistance, weak
	3.08	94	90	103.1	.	.	.
	3.26	96	90	103	.	.	Slight cough, drooling of saliva
	4.00	.	84	.	.	.	Body swaying
	4.20	.	60	.	.	.	Recovering rapidly

toxin was demonstrated in a suspension of pneumococci grown on neutral glycerine peptone agar, with injection 8, Lot VII. The reaction was severe and lasted more than I hour.

Table IV.

Injections of Heifer calf No. 2461.

Date	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remarks
1912	A. M.						
11/8	9.53	96	30	102.8	.	.	.
	9.59	.	30	.	.	.	.
	10.—	.	.	.	No. 1 Intrav.	10 c.c. susp. glyc. peptone agar growth of abortus bacilli (6550 mill. per c. c.) Lot I.	.
	10.01	.	36	.	.	.	.
	10.23	90	30	103.6	.	.	Apparently normal
11/8	10.31	.	.	.	No. 2 Intrav.	10 c.c. alcholic precipitate. Lot III.	.
	10.33	90	30	103.8	.	.	.
	10.45	.	30	.	.	.	Apparently normal
11/25	P. M.						
	1.38	108	12	101.6	.	.	.
	1.39	.	.	.	No. 3 Intrav.	50 c. c. susp. living washed abortus bacilli (5000 mill. per c. c.). Lot II.	Prostrated in 25 seconds
	1.40	.	90	.	.	.	Pulse imperceptible
	1.42	90	71	.	.	.	No blowing respiration or body swaying, up unassisted, pulse strong
	1.47	.	36	.	.	.	Apparently normal
11/25	1.48	.	.	.	No. 4 Intrav.	10 c. c. sol. alcoholic precipitate. Lot III.	Prostrated in 20 seconds
	1.49	.	48	.	.	.	Muscles rigid for 15 sec. Respiration labored
	1.51	.	72	.	.	.	Lacrimation
	1.53	.	88	.	.	.	Apparently comotose
	1.57	.	58	.	.	.	.
	2.03	.	72	.	.	.	Up to half dorsal position, blowing respiration, body swaying
	2.10	.	60	.	.	.	.
	2.29	.	.	.	.	.	Up unassisted
	3	.	.	.	.	.	Apparently normal

Tables III and IV, include the results of the injections of Bull calf 2460 and Heifer calf 2461. Injection 1 of 10 c. c. of the solution of the alcoholic precipitate, Lot III, caused a mild reaction in Calf 2460, showing that this animal was naturally sensitive to a limited degree. Fifteen days later injection 2 of a similar dose demonstrated an unusual sensitiveness by the complete, severe reaction which followed.

Calf 2461, failed to react to the initial injection of 10 c. c. suspension of a glycerine peptone agar growth of the abortus bacillus, Lot I, and also to injection 2, of 10 c. c. of the solution of the alcoholic precipitate,

Lot III, 31 minutes later. Injection 3 of this calf, 17 days after injection 2, included 50 c. c. of a heavy suspension of the bacilli, 5000 million bacilli per c. c. grown in Uschinsky's peptone free media. The overwhelming dose produced symptoms immediately, tabulated as a reaction. The complete recovery made by this animal in less than 10 minutes causes us to regard the reaction as atypical and of little significance. The calf responded promptly 10 minutes later with a very severe reaction, lasting for more than one hour, following injection 4 of 10 c. c. of the solution of the alcoholic precipitate, Lot III.

Table V.

Injections of Cow No. 2158.

Date	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remarks
1912	P. M.						
11/25	4.30	90	40	102	.	.	.
	4.34	.	.	.	No. 1 Intrav.	10 c. c. susp. living glyc. peptone agar cult. of abortus bacilli (Cult. W). Lot II.	.
	4.35	100	30	102	.	.	.
	5	.	30	.	.	.	Apparently normal
	P. M.						
12/16	2	78	30	102.6	.	.	.
	2.01	.	.	.	No. 2 Intrav.	10 c. c. susp. glyc. peptone agar culture typhoid bacilli (killed). Lot XV.	.
	2.02	.	90	.	.	.	Blowing respiration, pulse imperceptible
	2,05	.	96	103	.	.	Body swaying
	2.09	.	78	.	.	.	.
	2.17	.	102	103.2	.	.	Body swaying marked, blowing respiration
	2.23	.	104	103	.	.	Drooling of saliva small passage of feces, animal very weak
	2.30	.	104	103.1	.	.	Pulse imperceptible
	2.45	.	120	.	.	.	Blowing respiration
	2.50	.	120	103	.	.	.
	3	.	96	.	.	.	.
	3.30	.	78	102.4	.	.	Slight body swaying, blowing respiration
	4	.	48	.	.	.	.
	4.23	.	30	101.4	.	.	Animal weak, lying down
	A. M.						
12/17	8.30	.	.	.	.	.	Animal depressed, appetite lost, diarrhea marked

Table V further shows that a normal heifer is not likely to react to an initial intravenous injection 1 of 10 c. c. of a suspension of living abortus bacilli grown on glycerine peptone agar, and that during the next 21 days a marked sensitization to the peptotoxin develops. Injection 2 included 10 c. c. of a plain peptone agar culture of the bacillus typhosus, Lot XV; the reaction was unusually severe, lasting for more than 24 hours.

Table VI.
Injections of Bull No. 2430.

Date	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remarks
1912							
11/2	.	.	.	.	No. 1 Subcut.	4 c. c. susp. killed abortus bacilli grown on glycerine peptone agar. 10 000 mill. per c. c.	Lot XVI
11/12	.	.	.	.	No. 2 Subcut.	4 c. c. susp. killed abortus bacilli grown on glycerine peptone agar. 15 000 mill. per c. c.	Lot XVI
11/19	.	.	.	.	No. 3 Subcut.	4 c. c. susp. killed abortus bacilli grown on glycerine peptone agar. 20 000 mill. per c. c.	Lot XVI
11/27	.	.	.	.	No. 4 Subcut.	4 c. c. susp. killed abortus bacilli grown on glycerine peptone agar. 25 000 mill. per c. c.	Lot XVI
1912	P. M.						
12/21	3.07	96	24	101.8	.	.	.
	3.09	.	.	.	No. 5 Intrav.	10 c. c. susp. glycerine peptone agar growth of diphtheria bacilli (killed). Lot XI.	.
	3.10	96	24	101.8	.	.	
	3.15	.	30	.	.	.	Slight drooling of saliva
	3.20	.	18	.	.	.	.
	3.30	.	18	.	.	.	Apparently normal
1912	P. M.						
12/21	3.35	78	18	101.8	.	.	.
	3.38	.	.	.	No. 6 Intrav.	100 c. c. sol. glyc. peptone agar culture of bac. tetanus. Lot XII.	.
	3.40	.	84	.	.	.	Blowing respiration. Cough, lacrimation
	3.45	.	84	101.8	.	.	Drooling of saliva
	3.48	.	66	.	.	.	Blowing respiration marked
	3.50	.	78	.	.	.	Body swaying
	4.00	.	60	101.6	.	.	Pulse imperceptible
	4.15	.	48	.	.	.	Muscular tremors marked in hind quarters
	4.22	.	30	.	.	.	.
	4.49	72	30	102.4	.	.	Depressed; otherwise normal
12/21	4.55	72	30	102.4	.	.	.
	4.57	.	.	.	No. 7 Intrav.	10 c. c. susp. glyc. peptone agar culture abortus bac. (killed 60° C) water bath for 1 hr. Lot I.	.
	4.58	72	60	.	.	.	Blowing respiration
	5.00	.	48	.	.	.	Drooling of saliva; blowing respiration
	5.05	.	36	102.4	.	.	Cough
	5.10	.	24	.	.	.	Depressed; otherwise normal

Table VII.
Injection Cow 2180.

Date	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remarks
1912							
11/2	.	.	.	.	No. 1 Subcut.	4 c.c. susp. killed abortus bac. grown on glycerine peptone agar. Lot XVI. (10000 mill. per c.c.)	.
11/12	.	.	.	.	No. 2 Subcut.	4 c.c. susp. killed abortus bac. grown on glycerine peptone agar. Lot XVI. (15000 mill. per c.c.)	.
11/19	.	.	.	.	No. 3 Subcut.	4 c.c. susp. killed abortus bac. on grown glycerine peptone agar. Lot XVI. (20000 mill. per c.c.)	.
11/27	.	.	.	.	No. 4 Subcut.	4 c.c. susp. killed abortus bac. grown on glycerine peptone agar. Lot XVI. (25000 mill. per c.c.)	.
1912	A. M.						
12/19	9.59	72	18	101.4	.	.	.
	10.00	.	.	.	No. 5 Intrav.	10 c.c. sol. of glycerine peptone agar culture media. Lot XIII.	.
	10.04	.	14	.	.	.	.
	10.07	72	18	101.4	.	.	.
	10.13	72	18	101.4	.	.	Apparently normal
2/19	10.30	72	18	101.4	.	.	.
	10.31	.	.	.	No. 6 Intrav.	10 c.c. susp. glycerine peptone agar culture coli communis (killed). Lot XIV.	.
	10.35	.	72	.	.	.	Blowing respiration
	10.37	.	66	101.6	.	.	Pulse; imperceptible
	10.39	.	42	.	.	.	Blowing respiration
	10.45	.	66	.	.	.	.
	10.47	.	72	102	.	.	Blowing respiration
	10.51	.	78	.	.	.	.
	11.00	.	90	102.2	.	.	Pulse imperceptible
	11.05	.	72	.	.	.	.
	11.15	.	66	103	.	.	Animal weak
	P. M.						
	2.00	72	26	.	.	.	Labored breathing. Animal lying down. Diarrhea marked
12/21	2.38	102	18	102	.	.	.
	2.40	.	.	.	No. 7 Intrav.	10 c.c. susp. killed glycerine peptone agar culture of abortus bac. (60° C water bath 1 hr.) Lot I.	.
	2.44	102	18	.	.	.	.
	2.51	96	18	102.2	.	.	.
	3.00	96	18	102.2	.	.	.
	3.25	.	18	.	.	.	Apparently normal

Tables VI and VII include the injections of Bull 2439 and Cow 2180, both of which received 4 subcutaneous injections, 1, 2, 3, and 4, at 7 to 10 day intervals, of a suspension of dead bacilli, Lot XVI, before 10 c. c. suspensions of other organisms, grown on peptone agar, were tried, with the following results: Bull 2439, injection 5, 24 days after injection 4, of 10 c. c. suspension of dead diphtheria bacilli, Lot I, was followed by no reaction; injection 6, 28 minutes later, 100 c. c. solution of peptone agar culture media with dead tetanus bacillus, Lot XII, produced a distinct but mild reaction; injection 7, 80 minutes later, 10 c. c. suspension dead abortus bacilli (killed 60° C for 1 hour) caused a mild reaction. Cow 2180, 22 days after injection 4, received injection 5 of 10 c. c. solution of uninoculated, sterile glycerine peptone agar culture media, Lot XIII, without a reaction; injection 6, 31 minutes later, 10 c. c. suspension dead coli communis bacilli, Lot XIV, was succeeded by a distinct but mild reaction; injection 7, 48 hours later, 10 c. c. suspension killed (30° C for 1 hour) abortus bacilli was followed by no reaction. This animal was not infected and the sensitiveness caused by the earlier injection of dead organisms may have been completely satisfied by the previous injection of the suspension of Coli communis bacilli.

The question arose would injections into rabbits of killed abortus bacilli in the original suspension, Lot I, the killed (60° C for 1 hour) washed abortus bacilli, Lot II, and solution of the alcoholic precipitate, Lot III, in proportionate doses, bring about the same response in the production of antibodies, measurable by the presence of agglutinins in the blood serum?

Table VIII.

Rabbit No.	Injection intravenously	Before		After Inject.		
		Dose	Inject.	5 Days	10 Days	20 Days
2454	susp. washed killed abortus bacillus, Lot II	3.7 c. c.	1—10	1—2000	1—2000	1—1000
2455	susp. washed killed abortus bacillus, Lot II	3.7 „ „	1—10	1—4000	1—4000	1—800
3456	susp. unwashed killed abortus bacillus, Lot XVI	1 „ „	1—10	1—4000	1—4000	1—1500
2457	susp. unwashed killed abortus bacillus, Lot XVI	1 „ „	1—10	1—1200	1—1200	[1]
2458	solution alcoholic precipitate, Lot III	1 „ „	1—10	1—1200	1—1500	1—800
2459	solution alcoholic precipitate, Lot III	1 „ „	1—10	1—4000	1—1500	1—600

Table VIII shows that the increase in the agglutinins is about the same following the intravenous injection of the three substances into rabbits and that the peptotoxins are not essential.

To avoid reactions in sensitized animals by a previous injection of a solution of peptone (Witte's) as suggested by Besredka, Ströbel and Jupille (16) or the use of non-peptonized cultures when repeated intravenous injections are made was not tried. It was shown, however, that peptonized cultures can be safely used when the bacteria are thoroughly washed. For this reason, the entire elimination of peptone from

1) Contracted fibrinous pneumonia and died.

culture media as suggested by Nicolle (17) is not necessary, particularly in the media in which peptone is essential for a good growth of bacteria.

Preparation of the bacterial suspensions and alcoholic precipitate.

Lot I. The suspension of abortus bacilli, "Culture W" (13) was prepared in growing the bacilli, 24 to 48 hours on neutral glycerine peptone agar at 37° C, then suspending the growth in 0.85% sodium chloride solution. The growth from 2 cultures, was included in each 10 c.c. of suspension.

Lot II. The suspension of washed abortus bacilli was prepared the same as Lot I. In addition the suspension was centrifugalized (30 minutes) until the supernatant liquid was clear and the bacilli entirely thrown down. After decanting the supernatant liquid, 0.85% sodium chloride solution was added in equal volume, the bacilli stirred up, and again centrifugalized. The washing of the bacilli in this way was repeated 5 times, and the bacilli uniformally suspended in the last salt solution added.

Lot III. The solution of the alcoholic precipitate of the supernatant liquid of a suspension of abortus bacilli was prepared from the supernatant liquid decanted after centrifugalizing the original suspension; 9 equal volumes of absolute alcohol were added, the precipitate allowed to settle, the supernatant liquid decanted, the precipitate dissolved in distilled water and precipitated with 9 volumes of absolute alcohol. After again decanting the alcohol the precipitate was redissolved in a volume of 0.85% sodium chloride solution equal to the volume of the original supernatant liquid; 10 c.c. of the solution of the alcoholic precipitate approximately equaled 10 c.c. of the suspension of bacilli, Lot I.

Lot IV. The heated solution of the alcoholic precipitate was prepared in the same manner as Lot III; in addition the solution was sealed in glass bulbs and immersed in a water bath at 65° C for 30 minutes.

Lot V. The suspension of abortus bacilli in Uschinsky's peptone free media (15) was prepared by transplanting the growth of the bacillus in Uschinsky's media at least twice and incubated at 37° C for 48 to 96 hours before using the liquid culture with a heavy growth.

Lot VI. The suspension of abortus bacilli was obtained from the 96 hour growth on neutral glycerine peptone agar subcultures from Uschinsky's peptone free media growth. The growth from 2 cultures for each 10 c.c. dose was suspended in 0.85% sodium chloride solution.

Lot VII. The suspension of pneumococci (Neufeld No. 1); Lot VIII, Staphylococcus aureus (human mouth); Lot IX, non-hemolytic Streptococcus (human throat); Lot X, hemolytic Streptococcus (erysipelas), and Lot XI, diphtheria bacillus (human throat) were all prepared in the same way as Lot I.

Lot XII. The solution of plain neutral peptone agar culture of tetanus bacilli was obtained by heating a culture with a good growth for 3 successive days in an Arnold steam sterilizer. Before solidifying on the last day, 9 c.c. of hot 0.85% sodium chloride solution were added for each c.c., and the solution used when cooled to 38° C.

Lot XIII. The solution of neutral glycerine peptone culture media was obtained by heating and melting an uninoculated sterile tube of media, and diluting each c.c. with 9 c.c. of heated 0.85% sodium chloride solution. The solution was used when cooled to 38° C.

Table IX.
(Tables I—VII inclusive.)
Summary of injections.

Heifer No.	Injection	Interval	Material inj. intravenously	Results	Remarks
2438	1	Normal	5 c. c. susp. living abortus bac. glyc. peptone agar cult. Lot I	No reaction	.
„	2	5 days	10 c. c. susp. living abortus bac. glyc. peptone agar cult. Lot I	Severe reaction	.
„	3	3 „	10 c. c. sol. alcoholic precipitate. Lot III	Distinct reaction	.
„	4	15 „	80 c. c. cult. abortus bac. in Uschinsky's media. Lot V	No reaction	.
„	5	39 min.	10 c. c. susp. living abortus bac. subculture on G. P. A. from Uschinsky's peptone free media. Lot VI	Severe reaction	.
„	6	48 hours	10 c. c. of sol. of alcoholic precipitate. Lot III	Severe reaction	.
„	7	48 „	10 c. c. sol. of alcoholic precipitate. Lot III	Distinct reaction	Mild
„	8	19 days	10 c. c. susp. killed pneumococci G. P. A. cult. Lot VII	Distinct reaction	.
2437	1	Normal	5 c. c. susp. living abortus bac. G. P. A. cult. Lot I	No reaction	Slight cough
„	2	5 days	30 c. c. washed living abortus bac. G. P. A. cult. Lot II	No reaction	.
„	3	74 min.	5 c. c. susp. living abortus bac. G. P. A. cult. Lot I	Distinct reaction	Mild
„	4	3 days	10 c. c. sol. alcoholic precipitate. Lot III	Severe reaction	.
„	5	15 „	10 c. c. heated sol. alcoholic precipitate. Lot IV	Severe reaction	.
„	6	85 min.	10 c. c. sol. alcoholic precipitate. Lot III	Distinct reaction	Mild
„	7	48 hours	10 c. c. sol. of alcoholic precipitate. Lot III	No reaction	.
„	8	48 „	10 c. c. heated sol. alcoholic precipitate. Lot IV	Distinct reaction	Mild
„	9	20 days	10 c. c. susp. killed Staphylococcus aureus G. P. A. cult. Lot VIII	No reaction	.
„	10	24 min.	10 c. c. susp. killed non-hemolytic strep. G. P. A. cult. Lot IX	No reaction	.
„	11	34 „	10 c. c. susp. killed hemolytic strep. G. P. A. cult. Lot X	No reaction	.
„	12	39 „	10 c. c. susp. living abortus bac. G. P. A. cult. Lot I	Distinct reaction	Very mild

Heifer No.	Injection	Interval	Material inj. intravenously	Results	Remarks
2460*	1	Normal	10 c. c. sol. of alcoholic precipitate. Lot III	Distinct reaction	Mild
„	2	15 days	10 c. c. sol. of alcoholic precipitate. Lot III	Severe reaction	.
2461	1	Normal	10 c. c. susp. living abortus bac. G. P. A. cult. Lot I	No reaction	.
„	2	31 min.	10 c. c. sol. alcoholic precipitate. Lot III	No reaction	.
„	3	17 days	50 c. c. washed living abortus bac. G. P. A. cult. (heavy susp.). Lot II	Distinct reaction	Recovery unusually rapid
„	4	10 min.	10 c. c. sol. alcoholic precipitate. Lot III	Severe reaction	Recovery slow
2439*	1	Normal	4 c. c. susp. dead abortus bac. subcutaneously. Lot XVI	10 000 million per c. c.	.
„	2	10 days	4 c. c. susp. dead abortus bac. subcutaneously. Lot XVI	15 000 million per c. c.	.
„	3	7 „	4 c. c. susp. dead abortus bac. subcutaneously. Lot XVI	20 000 million per c. c.	.
„	4	8 „	4 c. c. susp. dead abortus bac. subcutaneously. Lot XVI	25 000 million per c. c.	.
„	5	24 „	10 c. c. susp. dead Bac. diphtheriae G. P. A. cult. Lot XI	No reaction	.
„	6	28 min.	100 c. c. sol. G. P. A. cult. of tetanus bac. Lot XII	Distinct reaction	Mild
„	7	80 „	10 c. c. susp. dead abortus bac. G. P. A. cult. Lot I	Distinct reaction	Very mild
2180	1	Normal	4 c. c. susp. dead abortus bac. subcutaneously. Lot XVI	10 000 million per c. c.	.
„	2	10 days	4 c. c. susp. dead abortus bac. subcutaneously. Lot XVI	15 000 million per c. c.	.
„	3	7 „	4 c. c. susp. dead abortus bac. subcutaneously. Lot XVI	20 000 million per c. c.	.
„	4	8 „	4 c. c. susp. dead abortus bac. subcutaneously. Lot XVI	25 000 million per c. c.	.
„	5	22 „	10 c. c. sol. G. P. A. cult. media (sterile). Lot XIII	No reaction	.
„	6	31 min.	10 c. c. susp. dead Bac. coli communis G. P. A. cult. Lot XIV	Distinct reaction	Mild
„	7	48 hours	10 c. c. susp. dead abortus bac. G. P. A. cult. Lot I	No reaction	.
2158	1	Normal	10 c. c. susp. living abortus bac. G. P. A. cult. Lot I	No reaction	.
„	2	21 days	10 c. c. susp. dead Bac. typhosus G. P. A. cult. Lot XV	Severe reaction	.

* Bull Calf.

Lot XIV. The suspension of coli communis bacillus; Lot XV, typhosus bacilli were prepared in the same way as Lot I.

Lot XVI. The suspension of killed abortus bacilli consisted of contagious abortion bacillus vaccine (12).

Conclusions.

1) The bacillus of contagious abortion of cattle (abortus bacilli) produces a toxin on peptonized culture media but not on peptone free media.

2) Thorough washing will rid the bacilli grown on peptonized media of the toxin.

3) The toxin is included in the alcoholic precipitate of the supernatant liquid of the suspension of the bacilli grown on peptonized agar.

4) Sixty-five degress Centigrade for 30 minutes apparently has no effect on the peptotoxin.

5) Cattle must be sensitized to react to the peptotoxin.

6) Bacillus typhosus, coli communis, tetanus and pneumococcus cultures, on peptonized agar, revealed the presence of peptotoxin when injected into animals sensitized to the abortus bacillus or its products. The peptotoxins of these organisms probably have much in common, if they are not one and the same substance, because animals can be sensitized with one for any of the others.

7) No reactions were observed following the injections into sensitized animals of peptonized agar cultures of the diphtheria bacillus, Staphylococcus aureus, non-hemolytic Streptococcus, and hemolytic Streptococcus, which may mean that the organisms did not produce peptotoxin or only in very small amounts.

8) Rabbits developed agglutinins following the injection of thoroughly washed and unwashed abortus bacilli equally well. The peptotoxin injected with the unwashed bacilli is not essential in the production of antibodies.

9) In that the abortus bacillus produces peptotoxin in a proteid medium and it is a possibility that peptotoxin is produced in milk with the bacilli from cattle in infected herds, the wholesomeness of such milk is more questionable.

At the meeting of the Society of American Bacteriologists held in the Rockefeller Institute for Medical Research, New York City, January 2, 1913, the question, would other strains of the abortus bacilli produce peptotoxin, was raised? To determine this 5 strains[1]) Cultures A, B, G, L and M were tried aside from the strain, Cult. W. previously used on the animals referred to in Table IX. The 5 strains were each

1) Cult. A. Isolated by the writers from a naturally infected cow in Pennsylvania.
„ B. Isolated by Bang, of Copenhagen, Denmark.
„ G. Isolated by Good of the Kentucky Agric. Exper. Station.
„ L. Obtained from Larson of the Wisconsin Agric. Exper. Station.
„ M. Isolated by Mohler, B.A.I. U.S. Depart. of Agricult.
„ W. „ „ „ „ „ „ „ „ „ „

Table X.

Date 1913	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remarks
					Injection of cow No. 2158 with cult. A.		
	P.M.						
1/7	3.28	96	30	101.6	.	.	.
	3.30	.	.	.	Intrav.	10 c. c. 72 hours plain bouillon culture of killed abortus bacilli	.
	3.31	.	30	.	.	.	.
	3.35	.	30	.	.	.	.
	3.38	84	30	102.2	.	.	.
	3.41	90	30	.	.	.	Apparently normal
1/7	3.55	.	.	.	Intrav.	10 c. c. susp. killed abortus bacilli grown on glyc. peptone agar	.
	3.56	.	48	.	.	.	Blowing respiration
	3.58	.	60	.	.	.	Cough, pulse barely perceptible
	4.00	.	84	102.6	.	.	Blowing respiration body swaying, cough
	4.02	.	66	.	.	.	.
	4.06	.	60	.	.	.	Cough, blowing respiration, body swaying, depression
	4.15	.	48	.	.	.	.
	4.25	84	36	102.6	.	.	Slight depression, otherwise normal
	4.30	.	.	.	.	.	Slight depression, otherwise apparently normal
					Injection of Bull No. 2439 with cult. B.		
	A.M.						
1/7	11.35	84	18	101.4	.	.	.
	11.37	.	.	.	Intrav.	10 c. c. 48 hours plain bouillon culture of killed abortus bacilli	.
	11.40	84	18	.	.	.	.
	11.44	78	18	101.4	.	.	.
	11.50	.	.	.	.	.	Apparently normal
1/7	11.54	.	.	.	Intrav.	10 c. c. susp. killed abortus bacilli grown on glyc. peptone agar (48 hours)	.
	11.55	.	66	.	.	.	Blowing respiration
	11.57	.	36	.	.	.	Head extended body swaying
	12.00	.	24	.	.	.	Somewhat depressed blowing respiration
	P.M.						
	12.04	72	24	100.2	.	.	.
	12.10	72	18	100.0	.	.	Apparently normal
					Injection of cow No. 2180 with cult. G.		
	P.M.						
1/6	2.43	84	30	103.0	.	.	.
	2.44	.	30	.	Intrav.	10 c. c. 48 hours plain bouillon culture of killed abortus bacilli	.
	2.47	.	30	102.4	.	.	.
	2.51	84	30	.	.	.	Apparently normal

Date 1913	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remarks
1/6	3.03	84	30	102.4	.	.	.
	3.05	.	.	.	Intrav.	10 c. c. susp. killed abortus grown on glyc. peptone agar	.
	3.06	.	96	.	.	.	.
	3.10	.	78	.	.	.	Blowing respiration, body swaying
	3.32	.	36	.	.	.	Slight blowing respiration
					Injection of Heifer No. 2437 with cult. L.		
	P.M.						
1/6	2.21	90	36	102.0	.	.	.
	2.25	.	.	.	Intrav.	10 c. c. culture of abortus bacilli grown in plain neutral bouillon	.
	2.27	.	60	.	.	.	Neck stiffened momentarily, eyes became greatly congested
	2.32	.	54	101.4	.	.	Blowing respiration
	2.34	108	48	.	.	.	.
	2.41	.	42	.	.	.	.
	2.54	.	42	102.4	.	.	Apparently normal
1/6	3.15	84	48	102.0	.	.	.
	3.18	.	.	.	Intrav.	10 c. c. susp. killed abortus bacilli grown on glyc. peptone agar	.
	3.19	.	.	.	.	.	Coughing, mucous membrane of eye congested, passing of feces, mouth open, tongue hanging out, head extended, drooling of saliva
	3.20	.	102	.	.	.	.
	3.27	.	78	103.0	.	.	Blowing respiration, body swaying, pulse imperceptible
	3.48	.	90	.	.	.	Blowing respiration, body swaying, drooling of saliva
	4.32	.	78	.	.	.	Blowing respiration, body swaying, coughing
	4.55	.	60	.	.	.	.
					Injection of cow No. 2438 with cult. M.		
	P.M.						
1/6	1.41	108	24	102.0	.	.	.
	1.44	.	.	.	Intrav.	10 c. c. 48 hours plain bouillon culture of killed abortus bacilli	.
	1.45	.	36	.	.	.	.
	1.48	.	30	102.0	.	.	.
	1.58	.	30	.	.	.	Apparently normal
1/6	2.02	90	24	102.4	.	.	.
	2.04	.	.	.	Intrav.	10 c. c. susp. killed abortus bacilli grown on glyc. peptone agar	.
	2.05	.	72	.	.	.	Blowing respiration, body swaying. Respiration apparently arrested at intervals

Date 1913	Time	Pulse	Resp.	Temp.	Inject.	Material	Symptoms and Remarks
1/6	2.09	.	78	103.2	.	.	.
	2.15	.	79	.	.	.	Drooling of saliva
	2.17	.	102	103.0	.	.	Blowing respiration, pulse imperceptible, body swaying, depression
	2.20	.	102	.	.	.	Head extended, cough, mouth open, body swaying
	2.30	.	108	.	.	.	Lacrimation, very much depressed
	2.40	.	72	.	.	.	.
	2.52	.	48	.	.	.	Blowing respiration
	3.12	.	33	.	.	.	Slight depression, otherwise normal

sub-cultured on neutral glycerine peptone agar and also in neutral plain bouillon and incubated 48 hours at 37° C. The suspensions of the growths on the glycerine peptone agar cultures were prepared in the same way as Lot 1 of Cult. W, and in addition the suspensions were heated to 60° C for 1 hour. The 48 hour neutral plain bouillon growths were also heated to 60° C for 1 hour and used in 10 c. c. doses.

Table X shows that all of the animals responded promptly with a typical reaction following the injection of 10 c. c. of the suspensions of the growths of each strain from neutral glycerine peptone agar cultures thus demonstrating that the production of peptotoxins on this media by abortus bacilli is not limited to one strain. The strains tried vary considerably in virulence, so that it is not likely that virulence plays a part in this phenomenon. The reactions obtained with the 10 c. c. neutral bouillon cultures, were very mild which may be due to the difference in the production of peptotoxin by the abortus bacilli in and on the two media or the difference in the growth which was very much heavier in the suspension of the 2 glycerine agar cultures, than in an equal volume of neutral plain bouillon.

Bibliography.

1) Bang, The Etiology of Epizootic Abortion-B. (Journ. Comp. Pathol. and Ther. 1896.)
2) Zwick, Causative Agent of infectious Abortion in Bovines. (Zeitschr. f. Immunitätsf. u. experim. Ther. Ref. Bd. 11. 1910.)
3) Epizootic Abortion. (Cattle-Report of the Departmental Committee Appointed by the Board of Agriculture and Fisheries of England. 1909.)
4) Mac Neal and Kerr, Bacillus of Bang, the Cause of contagious Abortion in Cattle. (Journ. Infect. Dis. Vol. 7. 1910.)
5) — — and Mares Good, Investigations of the Etiology of infectious Abortion of Cows. (Rep. 15th Ann. Meet. U. S. L. S. S. Assoc. 1911 and Kentucky Agric. Exper. Stat. Bull. No. 165. 1912.)
6) Giltner, Outline of Experiments; Work on infectious Abortion of Cattle. (Rep. 15th Ann. Meet. U. S. L. S. S. Assoc. 1911.)
7) Larsen, The complement-fixation Reaction on the Diagnosis of contagious Abortion of Cattle. (Journ. Infect. Dis. Vol. 10. 1912. No. 2.)
8) Hadley and Beach, The diagnosis of Contagious Abortion in Cattle by means of the Complement Fixation Test. (Univers. of Wisconsin Agric. Exp. Stat. Bull. Vol. 24. 1912.)
9) Surface, The Diagnosis of infectious Abortion in Cattle. (Ann. Rep. Kentucky Agricult. Exp. Stat. 1912.)

10) Melvin, The Bacterium of Contagious Abortion of Cattle demonstrated to occur in Milk. (U. S. Dept. Agric. B. A. L. Circular. 198. 1912.)
11) Smith and Fabyan, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1912. No. 7.)
12) Reichel, Contagious Abortion Bacillus Vaccine. (XVI. Ann. Rep. U. S. Live Stock Sanit. Assoc. 1912.)
13) Besredka, A., and Ströbel, H., Typhoid Anaphylatoxin. (Soc. de Biol. 1911. p. 413.)
14) — —, The nature of Anaphylatoxin. (Ibid. p. 599.)
15) Uschinsky's Peptone Free Media. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. 1893.)
16) Besredka, A., Ströbel, H. and Jupille, F., Bacteria Peptonized and Non-Peptonized. (Soc. de Biol. T. 63. 1911. p. 691; Abstr. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. 53. 1912. No. 10.)
17) Nicolle, Charles, Concerning the Suppression of Peptone in the Ordinary Media. (Soc. de Biol. Vol. 63. 1912. p. 403.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über das Blutserum und die Cerebrospinalflüssigkeit von Epileptikern.

[Aus der Medizinischen Klinik der Kgl. Universität Genua,
Vorstand: Prof. Dr. Maragliano.
Bakteriologisches und Mikroskopisches Laboratorium,
Dr. G. Costantini.]

Von **Carlo Trevisanello,** Assistenten.

Die Existenz des epileptogenen Prinzips im Blutserum und in der Cerebrospinalflüssigkeit der Epileptiker, nachgewiesen durch die anaphylaktische Reaktion?

Die in ihrem Produktionsmechanismus noch unvollständig bekannte Erscheinung der Anaphylaxie muß nicht nur als eine biochemische Erscheinung an und für sich, sondern als eine Erscheinung betrachtet werden, welche die Biologie anfängt, als Mittel zu wissenschaftlichen Untersuchungen, ähnlich wie es für die Komplementablenkung geschieht, zu verwerten.

Der Unterschied zwischen dem Phänomen von Richet und demjenigen von Bordet und Gengou ist im wesentlichen der, daß das erste sich in vivo, das zweite in vitro abspielt.

Die Erscheinung der Anaphylaxis hat bereits mehrfache Anwendung in der ärztlichen Theoretik und Praxis gefunden.

Händel und Uhlenhuth haben Untersuchungen ausgeführt, um das anaphylaktische Phänomen in der gerichtlichen Medizin zur Diagnose organischer Flüssigkeiten zu benutzen, ähnlich wie sie es früher mit der präzipitierenden Reaktion getan haben.

Es ist auch nicht unwahrscheinlich, daß das Phänomen später als diagnostisches Mittel wird verwertet werden können.

Aus der Anaphylaxie haben sich bisher Erklärungen für verschiedene krankhafte Erscheinungen ergeben, so z. B. für die Reaktion gegen Tuberkulin bei Tuberkulosen und für die auf den Erguß von Hydatidencystenflüssigkeit in die Peritonealhöhle von Leberechinokokkenkranken folgenden tödlichen Erscheinungen.

Ebenso wird die Serumkrankheit und die Ueberempfindlichkeit von v. Pirquet und Schick durch einen anaphylaktischen Mechanismus erklärt.

Ich hielt es infolgedessen für zweckmäßig, die Anaphylaxie zu benutzen, um zu untersuchen, ob in den organischen Flüssigkeiten von Epileptikern eine spezifisch toxische (epileptogene) Substanz nachweisbar ist.

Zu diesem Zwecke habe ich einige Tierversuche ausgeführt, über die ich hier berichten will. Zu der Anwendung der betreffenden experimentellen Technik wurde ich durch folgende Betrachtungen veranlaßt:

Wenn das Blutserum von Epileptikern eine spezifisch toxische Substanz enthält, so liegt die Annahme nahe, daß dieselbe auch in der Cerebrospinalflüssigkeit enthalten sei. Das Blutserum eines Epileptikers wird somit alle jene besonderen Stoffe (Wasser, Eiweiß, Globuline, Salze usw.) vereinigt enthalten, aus welchen jedes normale Serum zusammengesetzt ist, und nebenbei jene der Epilepsie eigenartige neurotoxische oder neurocytotoxische Substanz, und ebenso wird die Cerebrospinalflüssigkeit eines Epileptikers alle normalen Bestandteile jeder Cerebrospinalflüssigkeit und außerdem die genannte neurocytotoxische Substanz enthalten.

Wenn man, von dieser Annahme ausgehend, nachdem man durch Blutserum von einem Epileptiker ein Tier in geeigneter Weise zur Anaphylaxie vorbereitet hat, diesem Tier nicht Blutserum, sondern Cerebrospinalflüssigkeit desselben Tieres einspritzt und eventuell anaphylaktische Erscheinungen beobachtet, so sind diese s t r i k t e nicht auf das Serum (Globuline, Eiweißstoffe usw.), sondern auf die Cerebrospinalflüssigkeit zurückzuführen, welche jenen epileptogenen neurotoxischen Stoff enthält, der somit als wahres und echtes Antigen wirken würde. Es käme dabei sozusagen eine für die Epilepsie spezifische Anaphylaxie zustande.

Da normalerweise (d. h. bei Einspritzung zuerst von Blutserum eines normalen Individuums und dann von Cerebrospinalflüssigkeit desselben Individuums) die anaphylaktische Reaktion nicht eintritt, so konnte man annehmen, daß, wenn bei Anwendung von Blutserum und Cerebrospinalflüssigkeit von Epileptikern eine positive Reaktion eintrat, diese beiden Flüssigkeiten einen in normalen, d. h. nicht epileptischen Seris resp. Cerebrospinalflüssigkeiten nicht enthaltenen Stoff enthielten.

Von diesen Betrachtungen ging ich bei der Ausführung meiner Experimente aus.

Bekanntlich kann man zur Herbeiführung der anaphylaktischen Erscheinungen verschiedene technische Modalitäten anwenden, deren Resultate nicht immer gleich sind.

Die peritoneale und die subkutane Einspritzung sind die einfachsten und raschesten; die Resorption dabei ist aber variabel; außerdem können bei der hypodermalen Injektion lokale Reaktionen eintreten, welche zuweilen die allgemeine Erscheinung der Anaphylaxie komplizieren.

B e s r e d k a hat hingegen die Methode der intracerebralen Einspritzungen eingeführt, welche zwar sehr schwierig sind, aber ausgezeichnete Resultate ergeben, weil mit kleinen Flüssigkeitsmengen gearbeitet wird.

Es wird von einigen Autoren auch direkt in das Herz oder in die Drosselvene eingespritzt; die entsprechende Technik bietet aber Schwierigkeiten dar, und es sind Mißerfolge nicht selten, so daß meines Erachtens dieses Verfahren nicht verdient, bevorzugt zu werden.

Es ist ferner zu berücksichtigen, daß das anaphylaktische Phänomen nicht bei den verschiedenen Verfahren identisch ist: zuweilen kann man

Tiere auf einem Wege anaphylaktisieren, während auf einem anderen Wege die Erscheinung weniger deutlich zutage tritt.

Ich habe im allgemeinen die Methode Besredkas angewendet, als diejenige, die mir im Vergleich zu den übrigen die besten Resultate geliefert hat.

Ich will hier die betreffende Technik kurz beschreiben:

Ich führte bei Meerschweinchen die Schädeltrepanierung folgendermaßen aus: ich machte längs der Sutura sagittalis eine etwa 2 cm lange Inzision durch die Tegumente, entblößte das Periost, inzidierte dasselbe, löste es seitwärts ab und entblößte auf diese Weise eine pfenniggroße Fläche des Knochens. Danach durchbohrte ich möglichst sanft den Knochen, erreichte die Schädelhöhle, durchstach vermittels einer dünnen Hohlnadel die Dura und führte vermittels der vorher gefüllten Spritze die bestimmte Flüssigkeitsmenge langsam ein.

Ich zog die Hohlnadel zurück, schloß die Oeffnung, legte das Periost an seinen Platz, vernähte die Weichteile, bepinselte die Gegend mit Jodtinktur und ließ das Tier frei.

Ich habe stets mit der möglichst strengsten Asepsis operiert.

I. Gruppe von Meerschweinchen: Subkutane Einspritzung von Blutserum eines Epileptikers (Biggs); nach 10 Tagen subkutane Einspritzung von Cerebrospinalflüssigkeit desselben Individuums.

Nach 5 Minuten werden die beiden Tiere von einem anaphylaktischen Anfall (Zuckungen, allgemeine Konvulsionen, Muskelzuckungen, Tremor, Instabilität, Hypothermie) heimgesucht, der nach 1-stündiger Dauer sich langsam abschwächt.

Die Tiere erholen sich. Eins stirbt nach 9 Tagen (negativer nekroskopischer Befund); das andere überlebt lange Zeit.

II. Gruppe (6 Meerschweinchen): Hypodurale Einspritzung von Serum eines Epileptikers (Fernando); nach 9 Tagen hypodurale Einspritzung von Cerebrospinalflüssigkeit (0,2 ccm) desselben Kranken; nach 5 Minuten anaphylaktischer Anfall.

III. Gruppe (3 Meerschweinchen): Hypodurale Einspritzung von Cerebrospinalflüssigkeit eines Epileptikers (Nattius); nach 9 Tagen hypodurale Einspritzung von Serum desselben Kranken; nach 4 Minuten anaphylaktischer Anfall.

IV. Gruppe: Hypodurale Einspritzung von epileptischem Serum (Nattius); nach 9 Tagen hypodurale Einspritzung von nichtepileptischer Cerebrospinalflüssigkeit. Keine Erscheinungen.

V. Gruppe (3 Meerschweinchen): Hypodurale Einspritzung von nichtepileptischer Cerebrospinalflüssigkeit; nach 8 Tagen hypodurale Einspritzung von epileptischem Serum. Keine Erscheinungen.

VI. Gruppe (4 Meerschweinchen): Hypodurale Einspritzung von nichtepileptischem Serum; nach 8 Tagen hypodurale Einspritzung von epileptischer Cerebrospinalflüssigkeit. Keine Erscheinung.

VII. Gruppe (2 Meerschweinchen): Hypodurale Einspritzung von epileptischer Cerebrospinalflüssigkeit; nach 9 Tagen hypodurale Einspritzung von nichtepileptischem Serum. Keine Erscheinungen.

VIII. Gruppe (4 Meerschweinchen): Hypodurale Einspritzung von nichtepileptischem Serum; nach 8 Tagen hypodurale Einspritzung von nichtepileptischer Cerebrospinalflüssigkeit. Keine Erscheinungen.

IX. Gruppe (3 Meerschweinchen): Hypodurale Einspritzung von nichtepileptischer Cerebrospinalflüssigkeit; nach 9 Tagen hypodurale Einspritzung von nichtepileptischem Serum. Keine Erscheinung.

Wenn ich nun die Resultate meiner Untersuchungen kurz zusammenfassen wollte, so müßte ich in dem Sinne schlußfolgern, daß durch eine Reihe von Versuchen mit Meerschweinchen nachgewiesen ist, daß bei Tieren, denen man zuerst epileptisches Blutserum und nach 8—10—12 Tagen Cerebrospinalflüssigkeit desselben Kranken subdural einspritzt, anaphylaktische Erscheinungen auftreten, bestehend in Tremor, Konvulsionen, Hypothermie und zuweilen Exitus.

Dieselben Erscheinungen beobachtet man, wenn man zuerst die Cerebrospinalflüssigkeit und dann das Blutserum einspritzt.

Bemerkenswert ist noch ferner:

1) daß die anaphylaktische Reaktion bei den Tieren rascher eintrat und ausgesprochener war, denen Blutserum und Cerebrospinalflüssigkeit der Tiere eingespritzt wurde, bei denen die epileptischen Krisen häufiger eintraten und länger dauerten;
2) der Umstand, ob das Blutserum resp. die Cerebrospinalflüssigkeit unmittelbar nach einem epileptischen Anfall oder in zeitlicher Entfernung von diesem entnommen wird, scheint keinen Einfluß auf die Modalitäten der anaphylaktischen Reaktion auszuüben.

Literatur.

Ceni, Spezifische Autocytotoxine und Antiautocytotoxine im Blute der Epileptiker. (Neurolog. Centralbl. 1903. No. 8.)
— —, Nuove proprietà tossiche e terapeutiche del siero di sangue negli epilettici. (Riv. experim. di freniatria. Vol. 27. 1901. — Vedi anche Centralbl. f. Nervenheilk. u. Psych. 1902. März. e The Med. News. Vol. 8. 1902. No. 10—11.)
Catola, Epilessia e sieroterapia. (Riv. di patol. nervos. e ment. Vol. 8. 1903. Fasc. 9.)
Wende, Beiträge zur Blutserumbehandlung der genuinen Epilepsie nach Ceni. (Psychiatr.-neurol. Wochenschr. 1903. No. 36.)
Tienco, Contributo alla cura dell' epilessia col metodo Ceni. (Riv. sperim. di freniatria. Vol. 30. 1904.)
Ceni e Pastrovich, Ricerche sperimentali sull' etiologia auto-tossica dell' epilessia. (Riv. sperim. di freniatria. Vol. 27. 1901.)
Ceni, Effetti del sangue degli epilettici sullo sviluppo embrionale con particolari considerazioni sulla teoria tossica dell' epilessia. (Riv. sperim. di freniatria. Vol. 25. 1899.)
Gerhartzir, Zur Blutserumbehandlung der Epilepsie. (Neurol. Centralbl. 1904. No. 18.)
Mairet e Vires, III. Congresso Francese di Medicina interna in Nancy. 1896.
Guidi, Sopra un caso di epilessia trattato col metodo Ceni. (Annali dell' Istit. psichiatr. di Roma. Vol. 1. 1901—1902.)
Mazzei, La sieroterapia dell' epilessia col metodo Ceni. (Riforma med. 1904. No. 16.)
Ceni, Ueber das Wesen und die Spezifizität der im Blutserum der Epileptiker enthaltenen toxischen Stoffe. (Centralbl. f. Nervenheilk. u. Psychiatr. 1905. 15. März.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Granulosereaktion im Stuhle und ihre klinische Bedeutung.

[Aus Dr. Rodellas Sanatorium für Magen-, Darm- und Stoffwechselkranke in Venedig.]

Von Dr. **A. Rodella**, Venedig.

Unter Granulosereaktion der Bakterien versteht man die Eigenschaft mancher Bakterienarten, sich entweder in toto oder an manchen Stellen durch eine Jodlösung (gewöhnlich die Lugolsche Lösung) färben zu lassen. Man hat früher angenommen, daß auf diese Weise sich die Bakterien nur blau färben, und Nothnagel hat im menschlichen Stuhle eine Reihe von mit Jod sich bläuenden Mikroorganismen beobachtet und eine dieser Formen für identisch mit Clostridium butyricum Prażmowskis gehalten. Demgegenüber habe ich schon vor 3 Jahren[1]) darauf aufmerksam gemacht, daß im menschlichen Stuhle 3 Sorten von Färbung der ganulosebildenden Bakterien existieren; die einen färben sich mit Jod blau, die anderen violett, die dritten rosarot. Daß Nuancen und Uebergänge von einer Farbe zur anderen existieren, ist ebenfalls von mir mitgeteilt worden.

Leider hat bis jetzt die Granulosereaktion gar keine praktische Verwendung gefunden, ja man ist sich nicht einmal darüber einig, wie dieselbe ausgeführt werden soll. Die meisten Autoren bringen ein Stuhlpartikelchen auf dem Objektträger mit der Lugolschen Lösung direkt in Berührung, andere fixieren zuerst das Präparat in der üblichen Weise an der Flamme und übergießen es dann mit der Lugolschen Lösung. Der Unterschied zwischen beiden Methoden soll nach Angabe von Passini ein bedeutender sein.

So untersuchte z. B. Passini eine Reihe normaler Stühle von Säuglingen, und fand, mit geringen Ausnahmen, in allen, auch in Mekoniumstühlen, granulosetragende Formen. Moro hatte seinerzeit die Angabe von Passini nicht bestätigen können, da er seine Präparate nicht fixierte. Später, als er dies tat, konnte er in allen Präparaten Mikroorganismen finden, die sich mit Jod färbten. Dieser Unterschied könnte sich erklären lassen durch die Veränderungen, welche bei der Fixierungsmethode im Zelleibe der Mikroorganismen durch die Erwärmung hervorgerufen werden. Was mich anbetrifft, so habe ich bei ganz gesunden Brustkindern mit normalem Milchstuhl die Granulosereaktion fast immer vermißt. Seit einigen Jahren verfahre ich in der Ausführung dieser Reaktion in folgender Weise:

Auf ein Uhrglas gieße ich $^1/_2$—1 ccm Lugolscher Lösung, entnehme dann aus drei entfernten Partieen des Stuhles je 1 Platinöse und verrühre das Stuhlpartikelchen mit der Lugolschen Lösung gut, decke dann das Uhrgläschen zu und lasse es einige Zeit, sogar 2—3 Stunden, stehen. Der Bodensatz vom Uhrglas wird dann mittels der Platinöse unter dem Mikroskop untersucht. Man tut gut, das mikroskopische Präparat zuerst bei schwacher Vergrößerung zu beobachten, da manch-

1) Rodella, Ueber die klinische Bedeutung der Jodreaktion der Darmflora usw. (Wien. klin. Wochenschr. 1909. No. 34.)

mal rosarote oder violette Inseln sichtbar sind, worin die granulosetragenden Bacillen am reichlichsten sich befinden. Manchmal vermißt man diese gefärbten Inseln; die Bacillen sind jedoch vorhanden.

Welche Bedeutung kommt nun dem Vorhandensein der granulosebildenden Bacillen im Stuhle zu? Früher hat man die Granulosereaktion als bakteriologisches Diagnostikum verwerten wollen, um verschiedene Bakterienspecies des Stuhles sofort zu agnostizieren und voneinander zu trennen.

So glaubt z. B. auch Mannaberg, daß nur der Bacillus butyricus unter den Faecesbakterien diese Reaktion gibt, welche dementsprechend die Diagnose dieses Bakteriums sichern würde.

In der Abhandlung von Adolf Schmidt, „Die Funktionsprüfung des Darmes mittels der Probekost", werden die Angaben von Nothnagel, Mannaberg u. a. wiederholt, und Schmidt gibt an, daß sein Assistent Kemp die mit Jod blau gefärbten Clostridien des Stuhles gezüchtet und als identisch mit dem Granulosebacillus butyricus Grassberger nachgewiesen hat.

Andererseits ist zu erwähnen, daß Passini im Säuglingsstuhle mehrere Arten von aëroben, bzw. fakultativ anaëroben Bakterien gefunden hat, die in Reinkultur im Zelleibe Granulose ablagern, zum Teil sogar unter Bildung von granulosetragenden Clostridien versporen. Eine dieser Arten konnte nach Passini als eine dem Linksmilchsäurebacillus ähnliche bestimmt werden. Passini konnte eine Reinkultur des Linksmilchsäurebacillus zu üppiger Granulosebildung anregen. Grassberger hat dann diese Versuche ausgedehnt und gefunden, daß z. B. Bacterium coli sehr leicht zur Granulosebildung gebracht wird, ebenso Staphylokokken, der Milzbrandbacillus, überhaupt jedes Bakteriengemisch. Man muß daher mit der Verwertung der Jodreaktion für die bakteriologische Diagnose äußerst vorsichtig sein.

So wichtig auch die Versuche von Passini und Grassberger vom theoretischen Standpunkte aus sind, ist jedoch ein gewisser Gegensatz derselben und den von Passini selber erhobenen klinischen Erfahrungen nicht zu verkennen. Während Passini und Grassberger bei dem Zustandekommen der Granulosereaktion den Kohlehydraten eine so wichtige Rolle zuschreiben, fand Passini reichliche granulosebildende Bakterien im Säuglingsstuhle. Die Säuglingsnahrung ist aber nicht nur arm, sondern so ganz frei von denjenigen Kohlehydraten, welche für die Granulosereaktion am meisten in Betracht kommen. Es sind das diejenigen Sorten, die am wenigsten löslich sind, und bei welchen das Kohlehydratmolekül wie von einer Hülse durch ein vegetabilisches Gerüst umgeben ist. Wenn wir z. B. in die Diät eines Patienten eine große Quantität von Kartoffeln einschalten, so werden wir ceteris paribus die Granulosereaktion im Stuhle viel reichlicher bekommen, als wenn wir statt Kartoffeln das gleiche Quantum Zwieback geben.

Hiermit komme ich gleich auf die klinische Bedeutung der Granulosereaktion.

Ich muß gleich vorausschicken, daß die klinische Verwertung der genannten Reaktion mir erst möglich war, als ich von meinem Putrimeter[1]) für die in Frage kommenden Untersuchungen Gebrauch machen konnte. Die Untersuchungen, die ich früher daraufhin angestellt hatte,

1) Dies. Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912. H. 6/7.

ohne gleichzeitig das genaue Fäulnisvermögen des Stuhles kontrollieren zu können, besaßen mehr orientierenden Wert und waren außerdem zeitraubender und schwieriger.

Durch den gleichzeitigen Gebrauch meines Putrimeters konnte ich vor allem feststellen, daß die Granulosereaktion des Stuhles in einem gewissen Verhältnisse zu dem Fäulnisvermögen desselben steht, wenigstens insofern, als, wo die Fäulnisbakterien fehlen, auch die Granulosereaktion vermißt wird. Dieselbe kann jedoch selbstredend auch da fehlen, wo Fäulnisbakterien in großer Zahl vorhanden sind; für das Zustandekommen der Granulosereaktion sind also auch andere Faktoren notwendig.

Wie ich demonstriert habe[1]), besitzt der normale Säuglingsstuhl kein Fäulnisvermögen, wie mein Putrimeter anzeigt, da die Quecksilbersäule in ihrer Höhe vor wie nach der Impfung des Eiereiweißes mit dem normalen Milchstuhle unverändert bleibt. Im Einklange mit dieser Tatsache fehlt im normalen Säuglingsstuhle die Granulosereaktion gänzlich, vorausgesetzt daß man für die Ausführung derselben die eben von mir angegebene Methode verwendet.

Mit Mekonium oder mit dem durch Mekonium noch verunreinigten Milchstuhl läßt sich die Granulosereaktion manchmal erzielen. Es ist aber schwer, diesen Befund mit Genauigkeit zu erheben und richtig verwerten zu können. Erstens findet man auch im sterilen Mekonium runde und längliche Gebilde, die manchmal klein, manchmal aber von beträchtlicher Größe sind und sich mit Jod blau färben. Wenn diese Gebilde sehr reichlich sind, so kann man infolgedessen die granulosebildenden Bakterien leicht übersehen, und andererseits ist es nicht immer leicht, die nicht bakteriellen, durch Jod blau gefärbten Gebilde von den wahren Bakterien zu unterscheiden. Ferner weist das Mekonium auch in bezug auf sein Fäulnisvermögen ein regelloses Verhalten auf, so daß man manchmal mit dem Putrimeter nur ganz niedrige Werte bekommt, manchmal zeigt dagegen der Apparat fast so hohe Zahlen, wie mit dem Stuhl von Erwachsenen.

Dieselbe Regellosigkeit beobachtet man in dem Auftreten der Granulosereaktion des Mekoniumstuhles, was eine Verwertung derselben in der Pathologie der Neugeborenen unmöglich macht.

So wenig brauchbar auch die Granulosereaktion in diesen Fällen ist, so gute Dienste liefert sie uns als Kontrolle der Diätetik und für die Beurteilung des Zustandes des Chemismus der Digestionsorgane des erwachsenen Menschen. Unter physiologischen Verhältnissen fehlt die Granulosereaktion bei normaler, gesunder Diät. Es kommt natürlich nur der Anwesenheit verschiedener oder vieler, mit Jod gefärbter Formen eine klinische Bedeutung zu. Das Vorkommen vereinzelter Exemplare von granulosetragenden Mikroorganismen ist bedeutungslos und kann ein zufälliger, obwohl recht seltener Befund auch bei vollkommen normaler Verdauung sein.

Unter den Krankheiten, welche die Granulosereaktion am meisten begünstigen, ist die Hyperacidität zu nennen. Die Reaktion bei der Hyperacidität zeichnet sich dadurch aus, daß die granulosetragenden Mikroorganismen oft wie große Kokken in Kettenanordnung aussehen. Es handelt sich aber auch um große Haufen von solchen Kokken, welche manchmal aus 40—50 Elementen bestehen. Das Charakteristikum bei

1) Rodella, Processi intestinali putrido-tossici. (La Pediatria. 1912. No. 5.)

Hyperacidität ist also die rundliche Form der Mikroorganismen, im Gegensatz zu anderen Arten von Granulosereaktion, wo fast ausschließlich Fäden vorhanden sind.

Die Patienten, bei denen ich meine Beobachtungen gemacht habe, erhielten eine Diät, welche den von den meisten Autoren (Boas, Kolisch, Wegele usw.) vorgeschriebenen Hyperaciditätdiäten ähnlich war. Es wurden jeden Tag 200 g Gemüsepurée (gewöhnlich Kartoffelpurée) verabreicht, ferner Milch, Eier und Fleisch, wie üblich.

Eine ausschließliche Eiweißdiät oder eine Diät aus Milch, Eier, Butter und Brot verhinderte das Auftreten der Granulosereaktion.

Warum die Hyperacidität auf diese Reaktion begünstigend wirkt, kann ich nicht bestimmt angeben. Ich führe es hauptsächlich auf den Umstand zurück, daß die Hyperacidität die Verdauung der Kohlehydrate erschwert, so daß dieselben — wenigstens die schwer löslichen — fast unverändert in den Darm gelangen und ein Bruchteil derselben sogar den Dickdarm erreicht, welcher bekanntlich der Hauptsitz der Darmgärungen ist.

Da meine klinischen Fälle von Hyperacidität meistens mit einfacher Atonie, häufig auch mit Atonie und Gastrektasie verbunden waren, so glaube ich, einen weiteren Grund für das Zustandekommen der Granulosereaktion darin finden zu dürfen, weil wegen des erhöhten Salzsäuregehaltes im Magen meistens sporentragende Mikroorganismen den Pylorus passieren, so daß im Dickdarme vorwiegend eine Flora von sporogenen Bacillen sich entwickelt. Mit anderen Worten, wegen der atonischen Zustände des Magens verweilen die Ingesta in demselben so lange, daß der erhöhte Salzsäuregehalt die Entwickelung der asporogenen Mikroorganismen hemmt und nur die sporentragenden Arten und wenige andere säurewiderstandsfähige Mikroben sich im Darme weiter vermehren.

Die sporentragende Bacillenflora gibt dann bei Anwesenheit von unlöslichen Kohlehydraten leichter als andere Mikroorganismen die Granulosereaktion.

Diese Annahme wird auch dadurch gestützt, daß bei den Fällen, welche die Granulosereaktion in hohem Grade geben, eine Vermehrung der Darmfäulnis von meinem Putrimeter gezeigt wird, welche bekanntlich hauptsächlich von sporentragenden Bacillen gebildet wird. Auf diesen Umstand ist wahrscheinlich auch die Form der Granulosereaktion in diesen Fällen zurückzuführen, welche, wie oben gesagt, aus rundlichen Gebilden besteht, die wahrscheinlich nichts anderes darstellen als das Vorstadium der Sporen.

Ganz anders verhält sich die Granulosereaktion in den Fällen, in welchen anstatt der Hyperacidität des Magens sozusagen eine Hyperacidität des Darminhaltes stattfindet. Ich möchte mit diesem Ausdruck den Zustand bezeichnen, wo infolge mangelhafter Resorption der Fette der Stuhl wegen der Fettsäuren stark sauer reagiert. Hier sieht man recht häufig statt rundlicher Gebilde vorwiegend lange Fäden, die entweder in toto gefärbt oder gleichmäßig violett gesprenkelt sind. Dieselben sind vereinzelt, manchmal zart und verschlungen, ein anderes Mal in Knäuel gehäuft. Es handelt sich also um eine Erythrodextrinreaktion, die wahrscheinlich dadurch bedingt ist, daß die stark saure Reaktion des Darminhaltes eine weitere Umwandlung der Kohlehydrate nicht gestattet.

Sehr wahrscheinlich handelt es sich bei dieser Fadenvegetation um eine Entwickelung dieser Bacillen im Dickdarme, wogegen die rundlichen Gebilde, welche in Fällen von Magenhyperacidität zu sehen sind, eventuell stomachaler Provenienz sind. Die massenhaften violett oder rosarot gefärbten Fäden, die manchmal in Fällen von acholischen oder von Fettstühlen vorkommen (namentlich bei fehlerhafter leguminosenhaltiger Diät), dürften junge Generationen von Buttersäurebacillen sein, da der Kulturversuch für eine solche Annahme spricht. Hier wirken die Fettsäuren (hauptsächlich die Buttersäure) des Darminhaltes elektiv auf die Entwickelung einer Buttersäurebacillenflora, wie die von den Milchsäurebacillen gebildete Milchsäure im Magen eine vorwiegende Milchsäurebacillenflora hervorruft mit Ausschluß der gegen diese Säure empfindlichen Arten.

Boas sagt ganz richtig, daß die Stärkeverdauung nicht allein unter normalen, sondern auch unter krankhaften Zuständen eine so ergiebige ist, daß zahlreiche Pflanzenreste und namentlich wohlerhaltene, konzentrische Schichtung zeigende Amylumkörper zu den pathologischen Vorkommnissen gehören. In manchen Fällen zeigt Jodzusatz zu den Faeces eine fast durchgehende Blaufärbung, während in anderen Fällen eine mehr violette oder auch rosarote Färbung auftritt. In der erstgenannten Färbung hat man wohl einen höheren Grad von gestörter Amylumverdauung zu erblicken.

Die Granulosereaktion der Stuhlbakterien kommt häufig auch da vor, wo die jetzt nach Boas zitierte Stuhlfärbung mit Jod negativ ausfällt. Die Granulosereaktion ist also eine viel empfindlichere Reaktion zur Beurteilung der Kohlehydratverdauung und gibt über die Aetiologie und Topographie dieser Verdauungsstörung brauchbare Andeutungen.

Wie oben erwähnt, ergibt sich aus den Untersuchungen von Grassberger und Passini, daß jedes Bakteriengemisch bei Anwesenheit von Stärke zu üppiger Granulosebildung gebracht wird. Indessen geben nur wenige von den Stuhlbakterien die Granulosereaktion auch in den Fällen, wo Stärke im Darme vorhanden ist. Wie kann man sich das erklären?

Ein erster Grund liegt darin, daß bekanntlich ein großer Teil der Bakterien im Dickdarm bereits abgestorben ist; diese Mikroorganismen sind dann natürlich nicht mehr imstande, Stärke zu assimilieren und die Granulosereaktion zu geben. Die sporentragenden Bacillen, wie der Bacillus butyricus, gehören zu den widerstandsfähigen und zu denjenigen, die leicht zur Entwickelung kommen, und welche gerade im Dickdarm die günstigsten Bedingungen für ihre Entwickelung finden.

Einen zweiten Grund erblicke ich in den anaëroben Verhältnissen des Dickdarmes, unter welchen die anaëroben Bacillen besser ihre Entwickelung finden als aërobe, und das um so mehr, weil die hier zur Verfügung stehenden Kohlehydrate meistens von Schlacken gebildet sind und bekanntlich ein schlackenhaltiger Nährboden besser von Anaëroben als von Aëroben vergärt wird. In der Tat muß man auch an die verschiedene Affinität der Darmbakterien für Stärke denken.

Ueber das Verhalten der Darmflora gegenüber polymerisierten Zuckern, Körpern der Cellulosegruppe ($C_6H_{10}O_5$), wie Stärke und Glykogen, hat die bisherige Forschung nur sehr dürftige und wenig übereinstimmende Erfahrungen erbracht. So viel ist aber sicher, daß nicht alle Darmbakterien dasselbe Spaltungsvermögen gegenüber den Körpern der Cellulosegruppe besitzen, so daß es klar ist, daß auch die

Granulosereaktion früher und ausgiebiger bei manchen Arten auftritt als bei anderen.

Auf einen Punkt möchte ich hier noch besonders hinweisen, nämlich auf den Einfluß der Konsistenz des Stuhles auf den Ausfall der Reaktion. Die schönsten Bilder von Granulose hat man bei flüssigen Stühlen, auch wenn kein Dünndarmkatarrh besteht und die Diarrhöe nur als Zeichen eines Dickdarmkatarrhs abwechselnd mit Verstopfung vorkommt.

Ich will nicht länger bei der Besprechung der Granulosereaktion und ihrer klinischen Bedeutung verweilen. Mir genügt es, hier gezeigt zu haben, daß die Granulosereaktion der Darmbakterien auch ein „Indikator" der gestörten Verdauung der Körper der Cellulosegruppe ist. Diese Tatsache macht eine besondere Besprechung der „mit Jod sich bläuenden Mikroorganismen" (welche übrigens auch in dem vortrefflichen Lehrbuch von Boas zu finden ist), als ob wir es hier mit ganz besonderen Mikroorganismen zu tun hätten, ganz hinfällig.

Nur insofern handelt es sich hier um besondere Mikroorganismen, als die meisten granuloseführenden Bacillen zu den Anaëroben der Buttersäuregruppe gehören, in der bekanntlich auch der Bacillus putrificus Bienstock enthalten ist, welcher also nicht (wie es auch Boas tat) als eine von den Granulosebakterien verschiedene Art besprochen werden kann.

Bei Zerstörung des Pankreas (ich erinnere mich an einen Fall von Pankreascarcinom) sind fast alle Stuhlbakterien durch Jod blau gefärbt.

Wenn ich das bisher Gesagte rekapituliere, so ergibt sich, daß die Granulosereaktion im rein bakteriologischen Sinne keine Bedeutung hat, da dieselbe als Merkmal zur Differenzierung von Bakterien nicht dienen kann und nicht erlaubt, die mit Jod sich bläuenden Mikroorganismen als eine besondere Klasse zu betrachten. Die Granulosereaktion besitzt aber einen klinischen Wert:

1) Sie zeigt uns die innigen Beziehungen im Darme zwischen Eiweißverdauung und Amylumverdauung insofern eine Störung der ersteren auch eine Störung der letzteren mit sich bringt.

2) Diese Reaktion kann sich nicht decken mit der Färbung des Stuhles in toto, da die Granulosereaktion manchmal selbst dann auftritt, wenn diese letztere negativ ist.

3) Die Granulosereaktion gibt uns also auch einen Maßstab zur Beurteilung der Celluloseverdauung, resp. der Cellulosegärung im Darme, während die Jodfärbung des Stuhles in toto uns nur über die Stärkeverdauung orientiert.

4) Die Granulosereaktion tritt im Stuhle auf sowohl wegen Verminderung oder Aufhebung der Funktion der Stärke verdauenden Organe als auch wegen vermehrter Sekretion der auf diese Funktion antagonistisch wirkenden Organe. Die Magenhyperacidität ist also einer der häufigsten Faktoren für das Zustandekommen der Granulosereaktion.

Literatur.

Nothnagel, Zit. nach Boas.
Boas, Diagnostik uud Therapie d. Darmkrankheiten.
Jaksch, Zit. nach Boas.
Mannaberg, Nothnagels Handbuch.
Schmidt, A., Die Funktionsprüfung des Darmes mittels der Probekost.
Passini, Ueber granulosebildende Bakterien. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. No. 1.)
Grassberger u. Passini, ebendaselbst.
Moro, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 61. 1905 (III. F. Bd. 11, p. 722).
Rodella, dieses Blatt. Abt. I. 1908 u. Abt. I. Bd. 65. 1912. Wien. klin. Wochenschr. 1909. No. 2 u. 34.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Hämolyse durch chemische Agentien[1].

[Aus dem k. k. Hygienischen Institut der Jag. Universität zu Krakau: Vorstand Prof. O. Bujwid.]

Von Dr. **Philipp Eisenberg,**
d. Z. Assistent am Hygienischen Institut zu Breslau.

Vorliegende Untersuchungen, die vor 2 Jahren begonnen wurden, sollen hiermit, obzwar sie noch nach mancher Richtung hin einer Vervollständigung bedürfen, publiziert werden, da ich momentan nicht weiß, wann ich dieselben zu Ende werde führen können. Diesem vorläufigen Charakter meiner Mitteilung entsprechend sollen darin vor allem die tatsächlichen Ergebnisse Platz finden, ihre theoretische Erörterung aber sowie die in letzter Zeit beträchtlich angewachsene einschlägige Literatur nur ganz kurz besprochen werden.

Ohne die Wichtigkeit der Serumhämolyse und ihrer höchst interessanten Probleme zu verkennen, glaubte ich doch vor allem die Wirkung chemisch wohldefinierter Blutgifte untersuchen zu sollen, die viel einfachere und leichter übersehbare Verhältnisse bietet. Es versprechen solche Untersuchungen zunächst Aufschlüsse über die noch immer rätselhafte Struktur der roten Blutkörperchen, sodann kann an diesem relativ einfachen Modell der Mechanismus der Stoffaufnahme in Zellen sowie der Mechanismus von Giftwirkungen studiert werden, und endlich können manche verwickelte Fragen der „spezifischen" Hämolyse hier den Schlüssel zu ihrer Lösung finden.

Bezüglich der Technik der Versuche sei hier allgemein bemerkt, daß dieselben, wo nicht anders verzeichnet ist, an gewaschenen Hammelblutkörperchen ausgeführt wurden, die (mit wenigen, besonders angeführten Ausnahmen) in den Proben in 1,3-proz. Konzentration (auf die ursprüngliche Blutmenge berechnet) zur Verwendung gelangten. Die Proben wurden in 3—4 cm langen, 7—9 mm weiten Probierröhrchen angestellt; das Gesamtvolum betrug immer 1 ccm. Sofern es nicht besonders auf die Feststellung von Temperatureinwirkungen ankam, wurden die Proben

1) Ein Teil der hier veröffentlichten Befunde wurde ganz kurz bei der 6. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie am 31. Mai 1912 anläßlich der Diskussion über den Küsterschen Vortrag mitgeteilt (s. Bericht. Diese Zeitschr. Abt. I. Ref. Bd. 54. Beilage. p. 140.)

bei Zimmertemperatur gehalten und die Resultate in verschiedenen Intervallen 2—5mal festgestellt, um den zeitlichen Verlauf der Reaktion kennen zu lernen.

I. Ueber die Einwirkung von konzentrierten Salzlösungen auf Erythrocyten.

Hämolyse durch konzentrierte Salzlösungen. Ionenreihen. Den Ausgangspunkt meiner Untersuchungen bildete die Frage, ob Elektrolytlösungen, die bekanntlich manche Desinfektionsvorgänge steigern, andere hemmen, bei der Serumhämolyse die Komplementwirkung hemmen (das Komplement dagegen konservieren), auch die Hämolyse durch chemisch definierte Blutgifte in demselben Sinne beeinflussen. Um an diese Frage herantreten zu können, mußte vor allem die Eigenwirkung der Elektrolytlösungen auf die roten Blutkörperchen festgestellt werden. Dabei ergab sich die jedenfalls unerwartete Tatsache, daß stärker konzentrierte Neutralsalzlösungen auf Hammelerythrocyten hämolytisch wirken. Die Intensität der Wirkung weist bei verschiedenen Salzen sehr beträchtliche Differenzen auf, indem bei manchen erst in konzentrierten Lösungen partielle Hämolyse auftritt, andere dagegen bereits in mäßigen Konzentrationen vollständig hämolysieren. Eine genaue quantitativ-vergleichende Untersuchung dieser Wirkungen ist durch zwei Umstände erschwert: erstens durch die ungleiche Löslichkeit verschiedener Salze, die es nicht erlaubt, von allen zu untersuchenden Stoffen die gewünschten Molarkonzentrationen zu erhalten, zweitens aber durch die manchen Salzen eigenen Fällungswirkungen, die mit der Hämolyse interferieren. Aus meinen bisherigen Beobachtungen ergibt sich ungefähr folgende Reihe von Salzen nach ihrer steigenden Wirksamkeit: KCl, NaFl, NaCl, RbCl, LiCl, CH_3CO_2Na, KNO_3, $NaNO_3$, KBr, NaBr, RbBr, LiBr, $KClO_3$, NH_4Br, $MgCl_2$, $SrCl_2$, $BaCl_2$, $SrBr_2$, $CaCl_2$, $CaBr_2$, NH_4CNS, KCNS, KJ, NaJ, NH_4J. Unbestimmt ist noch die Stellung der Sulfate der Alkalien und alkalischen Erden. Soweit man die Frage jetzt übersehen kann, ergibt sich folgende Anionenreihe der hämolytischen Wirkung:

$$SO_4 < Fl < Cl < NO_3 < Br < CNS < J$$

und folgende Kationenreihen:

$$K < Na < Rb < Li,$$
$$Mg < Sr < Ba < Ca.$$

Es wird gewiß nicht uninteressant sein, diese Reihen mit denjenigen zu vergleichen, die sich aus der Wirkung der Neutralsalze bei anderen physikalischen, chemischen und biochemischen Vorgängen ergeben. Eine fast identische Anionenreihe ist für die hämolytische Wirkung hypotonischer Salzlösungen von Höber festgestellt worden, während die von ihm angegebene Kationenreihe ungefähr eine Umkehrung der oben angegebenen erkennen läßt. Vor allem aber möchte ich auf die mir erst in letzter Zeit bekannt gewordenen, höcht interessanten, mit Unrecht in der Literatur bis jetzt wenig beachteten Untersuchungen von Kiss hinweisen, welcher fand, daß, je stärker ein Neutralsalz in hypotonischer Lösung die Wasserhämolyse hemmt, desto stärker es in hypertonischer hämolysiert. Die von diesem Autor aufgestellten Reihen für die Hemmungswirkung der Ionen in hypertonischer Lösung stimmen fast ganz mit den oben angegebenen überein. Ebenso stimmen seine quantitativen Beobachtungen über die Hämolyse in hypertonischen Salzlösungen ganz mit den meinigen überein.

Mechanismus der Neutralsalzhämolyse. Welches ist nun der Mechanismus dieser Hämolyse? Man wird leicht einsehen, daß eine Deutung auf Grund der einfachen osmotischen Theorie von Hamburger sich kaum geben läßt: ein Platzen der Blutkörperchenmembran infolge des äußeren Ueberdrucks ist nicht gut vorstellbar. Auch wäre die Tatsache unverständlich, warum verschiedene Neutralsalze in derselben Molarkonzentration so verschieden wirken sollten — wirken sie doch im Sinne dieser Theorie nur entsprechend der Molekülanzahl. Anders wäre es, wenn man die von der osmotischen Theorie geforderte Impermeabilität für Salze fallen ließe und eine (wenn auch beschränkte) — Einwanderung von Salzmolekülen in das Blutkörperchen in Betracht zöge. Diese Möglichkeit ist jedenfalls nicht von der Hand zu weisen, speziell, wenn es sich um hypertonische Salzlösungen handelt. Bechhold und Ziegler haben nämlich gezeigt, daß in Gallerten erzeugte Niederschlagsmembranen bei osmotischem Gleichgewicht beiderseits für die Niederschlagsbildner impermeabel, bei Ueberdruck auf einer Seite aber für den betreffenden Stoff permeabel sind. Auch sprechen Versuche von J. Loeb für eine Permeabilität der Eihaut der Seeigeleier für hypertonische Neutralsalzlösungen, ebenso diejenigen von Bang für eine Permeabilität der Erythrocytenmembran für die Innensalze in hypotonischem Milieu. In diesem Zusammenhang möchte ich hier auf eine Uebereinstimmung hinweisen, die wohl nicht zufällig ist und viel zu denken gibt. Es findet sich nämlich, daß, je stärker ein Salz in konzentrierteren Lösungen hämolysiert, desto löslicher ist es in manchen Lipoidsolventien. Es seien hier die betreffenden Angaben nach Rothmund zusammengestellt:

Tabelle I.

Löslichkeit von Salzen in organischen Lösungsmitteln (nach Rothmund).

Die Zahlen bedeuten die in 100 g Lösungsmittel enthaltene Gewichtsmenge des Salzes. unl. = unlöslich; w. l. = wenig löslich; l. = löslich; — = nicht untersucht.

Salz	Lösungsmittel								
	Methylalkohol	Aethylalkohol	Propylalkohol	Amylalkohol	Aceton	Pyridin	Aethylacetat	Aether	Benzol
KCl	0,5	0,034	unl.	0,005?	unl.	w. l.	unl.	unl.	unl.
KBr	1,51	0,13	0,055	unl.	0,019	w. l.	unl.	unl.	unl.
KJ	16,5	1,75	0,455	unl.	2,38	0,26	l.	unl.	unl.
KCNS	—	—	—	0,18	20,5	6,15	0,4	unl.	unl.
NaCl	1,41	0,065	0,03	0,005?	unl.	unl.	0,24	unl.	unl.
NaBr	17	—	2,05	—	0,35	l.	w. l.	unl.	unl.
NaJ	77,7	43,1	28,74	—	34,92	l.	—	unl.	unl.
NH_4Cl	3,35	0,65	—	—	unl.	unl.	unl.	unl.	unl.
NH_4Br	12,5	3,22	—	—	—	—	unl.	unl.	unl.
LiCl	37,0	17,0	15,86	—	1,8	7,78	l.	unl.	unl.
$CdCl_2$	1,71	1,52	—	—	0,79	unl.	l.	l.	—
CdJ_2	219	113,8	—	—	25,0	w. l.	l.	0,25	0,47
$HgCl_2$	52,9	49,5	31,4	16,25	143	l.	28,6	6,44	0,54
$CuCl_2$	68	52,9	44,7	—	2,88	w. l.	0,4	0,043	unl.
$AgNO_3$	3,72	3,1	—	unl.	0,35	l.	unl.	unl.	0,22

Natürlich ist die Löslichkeit in diesen Lösungsmitteln noch nicht ganz identisch mit derjenigen in Lipoiden (ebenso wie die viel angewandte Löslichkeit in Oel), doch dürften gewisse Analogieen zweifellos vorhanden sein. Nimmt man diese aber an, so schließt sich diese Beobachtungs-

reihe an viele andere Tatsachen, welche eine enge Beziehung zwischen Lipoidlöslichkeit und Eindringungsvermögen sowie hämolytischer Wirkung verschiedener Stoffe dartun. Es würden also im Sinne der Theorieen von Koeppe sowie von Overton und H. Meyer die hämolysierenden Salze dank ihrer Lipoidlöslichkeit befähigt sein, in die Blutkörperchen einzudringen und hier eine Störung des komplizierten Kolloidsystems hervorzurufen, die zur Hämolyse führt. Da bei manchen Salzen diese Lipoidlöslichkeit (falls sie mit den oben angegebenen Löslichkeiten parallel geht) sehr gering ist, sind dazu starke Konzentrationen nötig. Ob im Innern der Blutkörperchen eine Zustandsänderung der Eiweißstoffe oder der Lipoide — oder eine Kombination beider Faktoren vor sich geht, ist für jetzt kaum zu entscheiden. Interessant ist es, in diesem Zusammenhange auf die wichtigen Untersuchungen von Porges und Neubauer über Zustandsänderungen von Lecithin- resp, Cholesterinsuspensionen unter dem Einfluß verschiedener Zusätze hinzuweisen. Betreffs der Salze wird man finden, daß je weniger fällend resp. je stärker aufhellend ein Salz auf Lecithin wirkt, desto größer ist seine hämolytische Wirksamkeit in unseren Versuchen. So ist denn auch die Anionenreihe für Lecithinfällung ungefähr ein Spiegelbild der oben für Hämolyse angegebenen. Es wäre auch möglich, daß ein im Sinne der osmotischen Theorie erfolgender Wasserentzug aus dem Blutkörperchen für diese Zustandsänderung von Bedeutung ist. Auch möchte ich nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, daß die oben aus der hämolytischen Wirkung konzentrierter Salzlösung sich ergebenden Ionenreihen mit den Haftdruckreihen von Traube große Uebereinstimmung aufweisen, und daß wahrscheinlich Kapillaraktivität und Lipoidlöslichkeit einen inneren Zusammenhang aufweisen.

Die Versuche über die Einwirkung stärkerer Konzentrationen von Neutralsalzen wurden auch an Meerschweinchen-, Menschen- und Taubenerythrocyten mit analogen Resultaten angestellt. Ein eingehender quantitativer Vergleich der Empfindlichkeit verschiedener Erythrocytenarten ist im Gange.

Hämolyse bei Uebergang aus stärkeren Neutralsalzlösungen in schwächere. Eine weitere beachtenswerte Erscheinung bei der Einwirkung stärker konzentrierter Elektrolyte ist die, daß Erythrocyten, die nach solcher Einwirkung durch Zentrifugieren von der Salzlösung befreit und nun in isotonischer NaCl-Lösung suspendiert werden, eine mehr oder minder ausgesprochene Hämolyse aufweisen. Dieses Phänomen ist nicht direkt auf die hämolytische Wirkung der betreffenden Salze zurückzuführen, da es auch nach solchen Konzentrationen eintritt, die an sich hämolytisch unwirksam sind, auch tritt diese Hämolyse momentan ein, während die eigentliche Salzhämolyse mehr oder minder langsam vor sich geht. Verschiedene Salze geben in entsprechenden Konzentrationen die Erscheinung in verschiedenem Grade — auch Salze organischer Säuren erweisen sich ebenso, wie bei der Salzhämolyse als wirksam. Außer den Hammelerythrocyten können auch Meerschweinchen-, Menschen- und Taubenerythrocyten hämolysiert werden.

Was die Ursache dieser eigenartigen Hämolyse anbelangt, können zwei verschiedene Deutungen herangezogen werden. Entweder ist die Erscheinung im Sinne der osmotischen Theorie darauf zurückzuführen, daß die im hypertonischen Milieu entwässerten und geschrumpften Blut-

scheiben beim Zurückversetzen in ein isotonisches Milieu plötzlich über ihre Elastizitätsgrenze durch das gewaltsam eintretende Wasser gedehnt werden, dabei platzen und nun ihr Hämoglobin herausdiffundieren lassen (sogenannte „Plasmoptyse" nach A. Fischer). Natürlich wäre dabei im Sinne neuerer Erfahrungen kaum an ein Bersten einer mit Flüssigkeit gefüllten Blase zu denken, sondern eher an zahlreiche kleinste Einrisse des Stromas (wiewohl auch diese Konzeption noch fraglich erscheint). Oder aber man könnte daran denken, daß die Salze in höherer Konzentration die Blutzellen in ihrem physikalisch-chemischen Gefüge schädigen (vielleicht unter Salzaufnahme im Sinne der vorhergehenden Erörterungen), daß aber durch die Hypertonie der Hämoglobinaustritt gehemmt wird. In den hohen Konzentrationen überwiegt die Schädigung und es kommt allmählich doch zur Hämolyse, in den mittleren Konzentrationen überwiegt die Hemmung, wird jedoch diese durch Aenderung des Milieus ausgeschaltet, so gehen nunmehr die geschädigten Blutzellen im isotonischen Milieu in Lösung. Daß eine derartige — etwas kompliziert erscheinende — Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen ist, zeigt das Beispiel der Formaldehydhämolyse, wo ich vor kurzem ganz analoge Verhältnisse habe nachweisen können. Formaldehyd bringt Blutkörperchen zur Quellung, gleichzeitig aber hindert sein Ueberschuß die Hämolyse. Wird nun diese Hemmung ausgeschaltet, indem man entweder die abzentrifugierten Erythrocyten in isotonischer NaCl-Lösung suspendiert oder indem man die formalisierte Aufschwemmung mit NaCl-Lösung verdünnt und dadurch den Formaldehydgehalt unter den Hemmungswert herabdrückt, so tritt momentan Hämolyse ein. In stärker konzentrierten Formaldehydlösungen (8-proz. und darunter) überwiegt die Schädigung (ebenso wie bei den Salzlösungen) und es tritt langsam Hämolyse ein. Sollten weitere Untersuchungen die hier skizzierte Auffassung der Salzhämolyse bestätigen, so stünden wir auch hier ebenso wie bei der Formaldehydhämolyse vor der merkwürdigen Erscheinung, daß Stoffe, die hämolytisch wirken, zugleich die eigene Hämolyse hemmen. In diesem Fall wird es sich auch lohnen, genauer zu untersuchen, in welchen Molarkonzentrationen die verschiedenen Salze in der oben beschriebenen Anordnung wirksam sind, und die daraus abgeleiteten Ionenreihen mit den oben aufgestellten zu vergleichen. Wenn Kiss die hier beschriebene Erscheinung, die auch er beobachtet hat, „als protoplasmatötende Wirkung der rasch nacheinander folgenden Konzentrationsänderungen und nicht einfach als physikalische Erscheinung" aufgefaßt haben will, so glaube ich, daß das doch nur auf eine Umschreibung der osmotischen Theorie hinauskommt, und daß mit Begriff des „Protoplasmatodes" gerade bei Erythrocyten, von deren Lebensbetätigung wir so wenig wissen, nicht viel gewonnen ist.

Hämolyse durch saure und alkalische Salze. Sodahämolyse. Während wir es bisher nur mit Neutralsalzen zu tun hatten, wollen wir jetzt uns kurz mit hydrolytisch dissoziierten Salzen befassen. Hier tritt uns bereits eine Kombination von zwei Faktoren entgegen — die Wirkung der nicht-dissoziierten Salzmoleküle, sowie die hämolytische Wirkung der abgespaltenen OH- resp. H-Ionen. Die hämolytische Wirkung, die wir bei vielen davon beobachten — ich nenne K_2CO_3, Na_2CO_3, Li_2CO_3, KCN, NaCN, BaCN, K_2SiO_3, Na_2SiO_3, K_3AsO_3, Na_3AsO_3, KBO_2, $KHSO_3$, $FeCl_3$, $SnCl_4$, K_2S, BaS, Na_2S, KHS, Phenolnatrium, Natriumglyzerate, viele Alkaloidsalze und Salze organischer Basen,

Natriumsalicylat u. a. — ist am besten als Resultante dieser beiden Faktoren aufzufassen. Hier soll die Sodahämolyse, die einiges Interessante bietet, an der Hand von Tabelle II und III etwas eingehender besprochen werden.

Tabelle II.

Jedes Röhrchen enthält 0,1 ccm einer 13,2-proz. gewaschenen Hammelblutaufschwemmung sowie die unten angegebenen Mengen von Kristallsoda in einem Gesamtvolumen von 1 ccm (aufgefüllt wird mit isotonischer NaCl-Lösung). In Reihe A bleiben die Röhrchen sich selbst überlassen, in Reihe B werden nach 20 Minuten langem, in Reihe C nach einstündigem Aufenthalt in Zimmertemperatur die Röhrchen zentrifugiert, die obere Flüssigkeit vom Bodensatz der Erythrocyten weggegossen und dieser in der gleichen Menge isotonischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Die Resultate sind nach $1^1/_4$-, $2^1/_2$- und 36-stündigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur verzeichnet.

Zeichenerklärung: Grad der Hämolyse, k = komplett, fk = fast komplett, st = stark, m = mäßig, w = wenig, Sp = Spur, Spch = Spürchen, 0 = keine Hämolyse, · = unverändert, * = sofortige Hämolyse.

Reihe	nach Stunden	(Na_2CO_3 + 10 Aq) Proz.							
		16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125
A	$1^1/_4$	0	fk	k	k	Spch	0	0	0
	$2^1/_2$	w	k	·	·	fk	Sp	0	0
	36	k	·	·	·	k	k	st	m
B	$1^1/_4$	k*	k*	k*	k*	Sp	0	0	0
	$2^1/_2$	·	·	·	·	Sp	0	0	0
	36	·	·	·	·	w	Sp	Spch	0
C	$1^1/_4$	k*	k*	k*	k*	Sp	Spch	0	0
	$2^1/_2$	·	·	·	·	Sp	Spch	0	0
	36	·	·	·	·	w	Sp	Sp	0

Tabelle III.

Versuchsanordnung wie in Tabelle I, nur wurden die Röhrchen in Reihe B nach 5 Minuten langem Aufenthalt bei Zimmertemperatur zentrifugiert. Die Resultate wurden nach 30 Minuten, 1, 2 und 22 Stunden (bei Zimmertemperatur) aufgenommen.

Reihe	nach	(Na_2CO_3 + 10 Aq) Proz.							
		16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125
A	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0	0
	1 Std.	0	0	fk	m	0	0	0	0
	2 „	0	k	k	k	Sp	Spch	0	0
	22 „	k	k	·	·	k	k	st	w
B	30 Min.	w	st	m	Sp	0	0	0	0
	1 Std.	k	fk	st	Sp	0	0	0	0
	2 „	·	fk	st	w	Spch	0	0	0
	22 „	·	k	fk	m	Sp	0	0	0

Aus den A-Reihen beider Versuche ist zunächst der eigenartige Charakter der Sodahämolyse ersichtlich; der verzögerte Eintritt und das Optimum, das bei den mittleren Konzentrationen (ca. 4 Proz.) liegt, erinnern an das Bild der Sublimathämolyse im Bereich der lösenden Konzentrationen. Sodann aber sehen wir, daß ähnlich, wie bei den Neutralsalzen nach Entfernung des Ueberschusses des Hämolytikums die in isotonischem Milieu suspendierten Erythrocyten momentan in Lösung gehen. Die osmotische Theorie versagt hier wohl ganz, denn 2 Proz. Kristallsoda = 0,74 Proz. = $^1/_{14}$ Mol. Konz. Na_2CO_3 kann

unmöglich einen zur Erklärung der „Plasmoptyse" genügenden Ueberdruck bewirken. Dagegen wird die Erscheinung besser verständlich, wenn wir annehmen, daß die Sodahämolyse durch OH-Ionen bedingt wird, und daß die nicht-dissoziierten Moleküle diese Hämolyse hemmen. Werden dieselben mit der oberen Flüssigkeit entfernt, so können die Blutkörperchen, wenn sie genügend OH-Ionen an sich gerissen haben, sofort in Lösung gehen. Das ist der Fall nach 20—60 Minuten langem Kontakt mit der Soda (Tab. II), in ungenügendem Maße aber nach nur 5 Minuten (Tab. III) — und zwar gelingt das nur bei 16—2-proz. Lösungen — in schwächeren Konzentrationen sind anscheinend zu dieser Zeit zu wenig OH-Ionen verankert (adsorbiert worden) oder es wird infolge der Reversibilität der Bindung ein Teil davon wieder abgespalten — daher Ausbleiben der Hämolyse in 1- und 0,5-proz. Lösungen in Reihe B und C, während in Reihe A bei fortdauerndem Kontakt eine verspätete Hämolyse doch noch zustande kommt.

Hämolyse durch Glyzerin, Harnstoff. An die Salzhämolyse schließt sich diejenige durch manche organische Substanzen, die ebenfalls erst in hohen Konzentrationen sich wirksam erweisen, wie Glyzerin, Natriumglyzerophosphat, Harnstoff. Glyzerin scheint infolge seiner hohen Viskosität nur sehr langsam einzudringen und hämolysiert dementsprechend erst spät (komplette Hämolyse bis zu etwa 50 Proz. herab). Bezüglich des Harnstoffs findet man bei vielen Autoren die Angabe von Gryns wiederholt, wonach Harnstoff in allen beliebigen wässerigen Lösungen hämolysiert, weil er schnell in die Blutkörperchen eindringt, daß aber bei Herstellung der Isotonie durch NaCl die Hämolyse ausbleibt. Nur bei Nolf sowie Führer und Neubauer finde ich die durch meine Versuche bestätigte Angabe, daß auch in isotonischer NaCl-Lösung hergestellte konzentriertere Harnstofflösungen (von 30—35 Proz. aufwärts) hämolysieren. Der Mechanismus der Harnstoffhämolyse erinnert an denjenigen der Salzhämolyse; wird in Konzentrationen, die an sich nicht hämolysieren, nach Abzentrifugieren der Bodensatz der Blutkörperchen in isotonischer NaCl-Lösung suspendiert, so erfolgt rasche Hämolyse, ebenso wenn man das Gemisch, ohne es zu zentrifugieren, mit isotonischer NaCl-Lösung auf das 2—5-fache verdünnt. Bemerkenswert ist der bei niederen Konzentrationen (ca. 1 Mol. Konz.) hervortretende Einfluß des Zeitfaktors, indem die Hämolyse in Gemischen, die nach längerer Einwirkungszeit des Harnstoffs verdünnt werden, stärker ist, als in solchen von kürzerer Einwirkungsdauer. Auch diese Beobachtung spricht gegen die Deutung dieser Hämolyse auf Grund der osmotischen Theorie, da rein osmotische Zustandsänderungen in kürzester Zeit vor sich gehen und nicht erst etwa 1—1½ Stunden zur vollen Ausbildung bedürfen, während bei Annahme einer direkten Einwirkung des Harnstoffs auf die Blutkörperchensubstanz diese Tatsache leicht verständlich erscheint.

II. Ueber synergetische Funktionen verschiedener hämolytischer Agentien.

Ich komme nunmehr zur Besprechung derjenigen Versuche, die den eigentlichen Ausgangspunkt der hier vorliegenden Untersuchungen bildeten. Bei dem Zusammenwirken zweier Agentien, von denen eines oder beide Hämolyse auslösen, kann entweder die hämolytische Funktion

unbeeinflußt bleiben, in anderen Fällen tritt Begünstigung oder Hemmung der Hämolyse ein. Für die Fälle von Begünstigung durch an sich unwirksame Agentien habe ich seinerzeit (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. p. 240) bei Besprechung von Agglutinationsvorgängen und Komplementfunktionen die Bezeichnung von „Synergismus“ eingeführt und neuerdings hat Fühner auf pharmakologischem Gebiet für analoge Begünstigungserscheinungen denselben Terminus gebraucht. Derartige Untersuchungen, wie sie für die Hämolyse bereits von manchen Autoren durchgeführt worden sind (Nolf, Koeppe, Küper, Arrhenius, Frey, Zangger, Henri und Cernovodeanu, v. Liebermann, Gros, Ritz, Friedemann und Sachs, Schultz, Bayer, Fenyvessy, Meyerstein, Pribram, Rondoni u. a.) haben nach der theoretischen wie nach der praktischen Seite hin eine große Bedeutung. Nach der theoretischen insofern, als die Tatsachen des Synergismus vielleicht gewisse Gruppierungen der hämolytischen Agentien ermöglichen und einen Einblick in den Mechanismus ihrer Wirkung erlauben. Nach der praktischen Seite hin erscheint auf Grund derartiger Untersuchungen die Möglichkeit gegeben, gewisse erwünschte Wirkung zu steigern, ohne höhere Dosen der betreffenden Pharmaka anzuwenden (wichtig speziell in Hinsicht auf schädliche Nebenwirkungen). Die Untersuchungen von Bürgi und seinen Schülern Fühner, Kochmann, v. Issekutz für Narkotika, von Gros, Laewen, Traube, v. Prowazek für Lokalanaesthetika und Protozoengifte haben die Wichtigkeit dieser Tatsachen ergeben und stellen vielversprechende Anfänge einer neuen pharmakotherapeutischen Richtung vor. Sodann wird aber auch die Bedeutung mancher Vehikel und natürlicher Drogen, die bisher als indifferente Beigaben betrachtet wurden, ins rechte Licht gerückt (Traube).

Wirkung der Hämolytika bei erhöhter Temperatur. Was nun zunächst die Mitwirkung des Temperaturfaktors bei der Hämolyse betrifft, wissen wir aus den Untersuchungen von Koeppe, Gross u. a., daß Erhitzen auf bestimmte Temperaturgrade an sich schon verschiedene Blutkörperchenarten auflöst und ist diese Erscheinung von Koeppe als Schmelzen der lipoiden Erythrocytenhülle gedeutet worden. Nachdem nun die Auffassung der Erythrocyten als mit Flüssigkeit gefüllter Lipoidblasen wohl kaum haltbar ist, wird man eher an physikochemische Zustandsänderungen der am Stromaaufbau beteiligten Lipoide (möglicherweise auch der Eiweißkolloide) denken. Auch ist es naheliegend, anzunehmen, daß auch unterhalb des „Schmelzpunktes“ bei noch intakten Blutkörperchen derartige, wenn auch weniger ausgesprochene Aenderungen vor sich gehen, die dann für die Stoffaufnahme in das Innere sowie für die Stabilität des die Intaktheit der Erythrocyten bedingenden Gleichgewichts von großer Bedeutung sein dürften. Daneben ist noch eine andere Möglichkeit in Betracht zu ziehen, die direkte Einwirkung der Temperaturerhöhung auf die Geschwindigkeit chemischer Reaktionen, die Begünstigung der Diffusion, der hydrolytischen Dissoziation, der Ionisation, die Herabsetzung der Adsorption. Wie wir sehen, ist das Problem ziemlich verwickelt und wird es im Einzelfalle oft schwer sein, den Anteil der einzelnen Faktoren an der beobachteten Förderung der Hämolyse zu bestimmen. Meine Versuche über den Einfluß höherer Temperatur auf die Wasserhämolyse der Ziegenerythrocyten ergaben eine deutliche Begünstigung, wie aus Tabelle IV ersichtlich ist.

Tabelle IV.

Jedes Röhrchen enthält die unten angegebene Menge H_2O sowie 0,2 ccm gewaschener 6,6-proz. Ziegenerythrocytenaufschwemmung in einem Gesamtvolumen von 1 ccm. Die Resultate sind nach 1 und 16 Stunden bei Zimmertemperatur aufgenommen. N = Niederschlag, Tr = Trübung.

Temperatur	H_2O-Gehalt						Paraldehyd-Gehalt					
	0		0,1 ccm		0,2 ccm		1 Prom.		2 Prom.		4 Prom.	
	1 Std.	16 Std.	1 Std.	16 Std.	1 Std.	16 Std.	1 Std.	16 Std.	1 Std.	16 Std.	1 Std.	16 Std.
nicht erhitzt	0	0	0	0	Sp	w	0	0	0	0	0	0
15 Min. erh. 50° C	0	0	0	Sp	w	st	0	w	0	w	0	w
15 Min. erh. 55° C	0	0	Spch	w	st	k	fk	k	fk	k	k	k
15 Min. erh. 60° C	0	k	m	k	st	kN	kN	.	kN	.	kN	.
15 Min. erh. 65° C	kTr	N	kTr	N	kTr	N	kN	.	kN	.	kN	.

Ein anderer Versuch mit 1-stündigem Erhitzen auf 50° C ergab bei Hammelblutkörperchen keine Steigerung der Wasserhämolyse. Bei der Hämolyse durch Alkohol (auch von Schultz beobachtet für 37° C und Eis), Phenol, Saponin, Natriumglykocholat, Pyridin, Paraldehyd, H_2SO_4, KOH, Glyzerin, Anilin, Chloroform, Aether (s. Tabelle IV und V) war durch Erhitzen der Proben auf 50° C sowohl Beschleunigung als auch quantitative Steigerung des Vorganges zu erzielen, indem die hämolytische Grenzkonzentration auf $^1/_2$—$^1/_8$ der normalen herabgesetzt wurde. Auch die hämolytische und fällende Wirkung der Neutralsalze wird in demselben Sinne beeinflußt (Tabelle VI).

Förderung verschiedener Hämolysearten durch stärkere Neutralsalzkonzentrationen. Weitere Untersuchungen galten dem Einfluß stärker konzentrierter Neutralsalze auf verschiedene Hämolysearten. Dank den Arbeiten von Scheurlen, Scheurlen und Spiro, Spiro und Bruns sowie Reichel wissen wir, daß die Desinfektionswirkung der Phenole durch Neutralsalze erhöht wird, ebenso, daß die Erscheinung durch eine Löslichkeitsbeeinflussung des Phenols durch die Salze bedingt wird, wodurch seine Verteilung zugunsten der Lipoidphase verschoben wird. Da nun zwischen Bakterien und Erythrocyten viele Analogieen betreffs der Stoffaufnahme und Beeinflußbarkeit bestehen (besonders betreffs der spezifischen Serumwirkungen), lag es nahe, gewisse Aehnlichkeiten im Mechanismus der Desinfektion und Hämolyse vorauszusetzen, und tatsächlich ergaben diesbezügliche Versuche, daß Neutralsalze eine ganze Reihe hämolytischer Vorgänge beschleunigen und quantitativ fördern. Die Prüfung auf Hämolysebegünstigung oder -hemmung wurde im allgemeinen in der Weise ausgeführt, daß zunächst mit Hilfe einer Reihe von Verdünnungen der hämolytische Grenzwert des betreffenden Stoffes im Vorversuch ermittelt wurde und dann im eigentlichen Versuch eine Reihe von Verdünnungen mit dem Exponenten 2 (d. h. jede vorhergehende Probe doppelt so stark als die folgende) einmal mit, das andere Mal ohne Zusatz geprüft wurde. Handelte es sich um Begünstigung, so wurden gewöhnlich die zwei letzten wirksamen und einige unmittelbar folgende unwirksame Verdünnungen geprüft und nach Art und des Ausfalls und dem zeitlichen Fortgang der Hämolyse wurde die Begünstigung beurteilt. Wurde dagegen auf Hemmung untersucht, so kam nur eine Reihe von wirksamen Verdünnungen in Betracht. Die

Tabelle V.

Jedes Röhrchen enthält in einem Gesamtvolumen von 1 ccm 0,1 ccm einer 13,2-proz. gewaschenen Hammelblutaufschwemmung. Die Resultate sind nach 30 Minuten, 2 und 15 Stunden aufgenommen.

Hämolytikum	Nach	Nicht erhitzt				2 Std. auf 50° C erhitzt			
		0,2	0,1	0,05	0,025	0,2	0,1	0,05	0,025
Saponin 0,25-proz.	30 Min.	Sp	0	0	0	k	0	0	0
	2 Std.	st	Spch	0	0	.	st	0	0
	15 Std.	k	Sp	Spch	0	.	k	Sp	Spch
Natriumglyko-cholat 0,2-proz.	30 Min.	0	0	0	0	k	k	k	0
	2 Std.	w	0	0	0	N	N	.	w
	15 Std.	k	Spch	0	0	.	.	.	k
Phenol 3,3-proz.	30 Min.	k	0	0	0	kN	k	w	0
	2 Std.	.	0	0	0	.	N	k	k
	15 Std.	.	k	0	0	.	.	N	.
Pyridin 20-proz.	30 Min.	kTr	0	0	0	kN	kN	kTr	0
	2 Std.	N	0	0	0	.	.	N	mTr
	15 Std.	.	k	0	0	.	.	.	N
Aethylalkohol 80-proz.	30 Min.	k	0	0	0	kN	k	Sp	0
	2 Std.	.	0	0	0	.	Tr	k	k
	15 Std.	.	0	0	0	.	N	.	.
Chloralhydrat $^1/_5$ gesätt.	30 Min.	k	0	0	0	kN	k	k	0
	2 Std.	.	fk	0	0	.	N	N	m
	15 Std.	N	k	0	0	.	.	.	kN
H_2SO_4 1-prom.	30 Min.	k	k	k	0	k	k	k	0
	2 Std.	.	.	.	w	Tr	Tr	Tr	fk
	15 Std.	N	N	Tr	w	N	N	N	kTr
KOH $^1/_{20}$ n.	30 Min.	k	0	0	0	k	k	k	w
	2 Std.	.	w	0	0	.	.	Tr	k
	15 Std.	.	k	m	0	.	N	N	N

Blutkörperchenkontrolle.

	Nicht erhitzt	Erhitzt
30 Min.	0	0
2 Std.	0	0
15 Std.	0	Sp

Tabelle VI.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblut-aufschwemmung sowie die unten angegebenen Mengen gesättigter wässeriger Neutral-salzlösungen. Die Resultate sind nach 1 und 15 Stunden abgelesen.

Salz	Nach	Nicht erhitzt					1 Std. auf 50° C erhitzt				
		Salzlösung					Salzlösung				
		0	0,1	0,2	0,4	0,9	0	0,1	0,2	0,4	0,9
NaCl	1 Std.	0	0	0	0	Sp	0	0	0	0	kN
	15 Std.	0	0	0	Spch	st	0	0	Spch	Sp	.
$CaCl_2$	1 Std.	0	0	0	k	kTr	0	0	kN	kN	kN
	15 Std.	0	0	fk	N	N	0	st	.	.	.

Verdünnungsreihe wurde absichtlich nicht zu fein abgestuft, um nur eindeutige Ausschläge zu bekommen, da bei der Empfindlichkeit des Reagens und der Vielgestaltigkeit der hämolytischen Faktoren leicht durch unkontrollierbare Einflüsse geringe Fehler sich einschleichen. Von Hämolyticis wurden in dieser Weise auf Begünstigung durch Salze mit positivem Erfolg untersucht: Methyl-, Aethyl-, Propyl-, Isoamyl-, Butyl-, Isobutyl-, Heptyl-, Oktyl-, Allylalkohol, Aethyläther, Aceton, Chloroform, Thymol, Chloralhydrat, Natriumsalicylat, Phenol, o-, m- und p-Kresol, Orcein, Resorcin, Pyrogallol, α- und β-Naphthol, o-Chlorphenol, Guajakol, Thiophenol, Pyridin, Piperidin, Chinolin, Isochinolin, Antipyrin, Natriumsalicylat, Phenylharnstoff, Saponin, Sapotoxin, Digitalin (kryst. Merck), Cyclamin, Senegin, Natriumglykocholat, Natriumtaurocholat. Negative oder kaum nennenswerte Resultate erhielt ich bei α- und β-Naphthylamin, Tetrachlorkohlenstoff, Salizylaldehyd, Vanilin, Phenylacetat, Digitalin (purum Merck), Neurin, Mononatriumglyzerat; von Hemmungen durch Neutralsalze soll weiter unten noch die Rede sein. Was die Salze betrifft, die als fördernd befunden wurden, so sind es dieselben, von deren hämolytischer Wirkung oben berichtet wurde. Die verschiedenen Salze wirken in verschiedenen Konzentrationen fördernd; im allgemeinen scheint ein Parallelismus zwischen hämolytischer und hämolysebefördernder Funktion zu bestehen. Auch wird es zweifellos sich lohnen, was demnächst geschehen soll, auf Grund quantitativer Untersuchungen Ionenreihen der Hämolysebegünstigung für verschiedene Hämolytika aufzustellen und untereinander zu vergleichen. Ebenso wird es interessant sein, diese Reihen mit jenen zu konfrontieren, die Miculcich, Port sowie Teruschi für isotonische Salzlösungen bei der Alkohol-, Urethan-, Saponin-, KOH- und Vibriolysinhämolyse, v. Eisler für die komplexe spezifische Serumhämolyse gefunden haben. Beispielshalber gebe ich in Tabelle VII die Einwirkung einiger Salze auf die Alkohol-, Aceton-, Phenol-, Saponin- sowie Natriumglykocholathämolyse wieder.

Mechanismus der Hämolyseförderung durch Neutralsalze. Was den Mechanismus dieser Hämolysebegünstigung betrifft, wird man wohl zunächst auch hier an Löslichkeitsbeeinflussung denken, die durch Herabsetzung der Löslichkeit des Hämolytikums in der Außenflüssigkeit (eventuell Herabsetzung des „Haftdruckes“ nach Traube) seinen Eintritt in die andere Kolloid- resp. Lipoidphase begünstigt. Freilich sind auch diese Verhältnisse nicht ganz einfach, wie eine Uebersicht des vorliegenden physikalischen-chemischen Materials zeigt (siehe Rothmund) und würden erst spezielle Untersuchungen für jeden besonderen Fall nötig sein. Doch ist daneben noch eine zweite Betrachtungsweise der besprochenen Tatsachen möglich. Wie wir oben gesehen haben, sind ja die Salzzusätze nicht ganz indifferent, sondern wirken in bestimmten Konzentrationen an sich hämolytisch. Die fördernden Salzkonzentrationen betragen zumeist beträchtliche Bruchteile der hämolytischen — meist $^1/_2$ bis $^1/_4$ — es wurden, um deutliche Ausschläge zu erlangen, diejenigen Salzzusätze in Betracht gezogen, die imstande sind, die Hälfte resp. ein Viertel der lösenden Minimaldosis eines Hämolytikums in die eben komplett lösende zu verwandeln. Man kann also die beschriebene Beeinflussung wohl in den meisten Fällen als Additionsvorgang zweier Beeinflussungen betrachten, nur selten scheint das Resultat über eine Summation hinauszugehen und die Hilfsannahme einer gewissen Potenzierung oder Löslichkeitsbeeinflussung im oben erörterten Sinne

Tabelle VII.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung, außerdem die angegebenen Mengen der gesättigten wässerigen Salzlösung sowie des Hämolytikums. Die Resultate sind nach 1- und 16-stündigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur verzeichnet. lG = loses Gerinnsel.

Hämolytikum	Nach	LiBr ges. Lösung = 4,6 Mol.-Konzentration									$SrBr_2$ ges. Lösung = ca. 2 Mol.-Konzentration								
		0,1			0,2			0,4			0,1			0,2			0,4		
Saponin $^1/_{16}$ ‰	1 Std.	k	k	0	k	k	k	k	k	k	k	0	0	k	k	0	k	k	k
0,4—0,2—0,1	16 Std.	.	.	w	.	.	.	.	.	.	.	fk	0	.	.	st	lG	lG	lG
Na. glyk. 0,5 ‰	1 Std.	k	Sp	0	k	k	st	k	k	k	k	0	0	k	w	0	k	k	fk
0,4—0,2—0,1	16 Std.	.	k	Spch	.	.	k	.	.	.	.	st	Sp	.	k	st	lG	lG	klG
Phenol 0,8 %	1 Std.	k	0	0	kTr	k	0	kTr	kTr	k	0	0	0	kTr	0	0	kTr	kTr	k
0,4—0,2—0,1	16 Std.	N	k	Sp	N	lG	lG	lG	lG	lG	k	Spch	0	N	kN	k	lG	lG	lG
Aethylalk. 55 %	1 Std.	k	w	0	k	k	k	lG	k	k	m	0	0	k	k	0	kTr	k	k
0,3—0,2—0,1	16 Std.	.	k	Sp	lG	lG	.	.	lG	Tr	k	w	0	lG	lG	k	lG	lG	lG
Aceton 55 %	1 Std.	st	0	0	k	fk	fk	kTr	k	k	w	0	0	k	w	0	kTr	k	k
0,3—0,2—0,1	16 Std.	k	w	Sp	lG	kTr	kTr	lG	lG	lG	k	Spch	0	lG	klG	fk	lG	lG	lG
0	1 Std.		0			Spch			k			0			0			w	
	16 Std.		0			k			kTr			0			0			k	

Hämolytikum	Nach	$SrCl_2$ ges. Lösung = ca. 2,1 Mol.-Konz.						RbBr ges. Lösung = ca. 0,9 Mol.-Konz.						NaFl ges. Lösung = ca. 0,8 Mol.-Konz.						0		
		0.1			0,4			0,1			0,4			0,1			0,4			—		
Saponin $^1/_{16}$ ‰	1 Std.	k	0	0	k	k	k	k	fk	0	k	k	k	k	0	0	k	Spch	0	w	0	0
0,4—0,2—0,1	16 Std.	.	fk	w	.	.	.	.	k	0	.	.	.	.	w	Spch	.	k	st	k	Sp	0
Na. glyk. 0,5 ‰	1 Std.	w	0	0	k	k	Spch	k	0	0	k	k	k	k	0	0	k	Spch	0	k	0	0
0,4—0,2—0,1	16 Std.	k	m	0	.	.	fk	.	k	0	.	.	.	.	k	Spch	.	k	w	.	Sp	0
Phenol 0,8 %	1 Std.	0	0	0	k	k	Spch	0	0	0	kTr	Sp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,4—0,2—0,1	16 Std.	k	Spch	0	.	.	k	k	Sp	0	lG	k	k	k	0	0	k	0	0	k	0	0
Aethylalk. 55 %	1 Std.	w	0	0	k	k	0	w	0	0	k	k	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,3—0,2—0,1	16 Std.	k	w	0	.	.	k	k	w	0	.	.	k	k	Spch	0	k	Sp	0	k	0	0
Aceton 55 %	1 Std.	0	0	0	k	w	0	w	0	0	k	m	0	Sp	0	0	w	0	0	Sp	0	0
0,3—0,2—0,1	16 Std.	k	0	0	.	k	st	k	st	0	Tr	kTr	kTr	k	k	k	k	k	k	k	0	0
0	1 Std.		0			0			0			0			0			0			0	
	16 Std.		0			0			0			0			0			0			0	

nötig zu machen. Beim LiBr ist 1,2 Mol.-Konz. die lösende Grenzkonzentration, die Hälfte davon = 0,6 Mol.-Konz. verwandelt beim Saponin, Natriumglykocholat, Phenol, Alkohol die Hälfte der lösenden Dosis in die komplett lösende — beim Aceton ist die Wirkung noch schwächer — wir haben es also bloß mit Additionsvorgängen zu tun, beim $SrBr_2$ ist dasselbe der Fall, dagegen geht die Wirkung des RbBr sowie NaFl darüber hinaus (s. Tabelle VII), indem hier bereits der 10. Teil der selbstlösenden Dosis sich als wirksam erweist. Im Sinne der hier entwickelten Auffassung kann man natürlich die beschriebenen Erscheinungen auch umgekehrt als Förderung der Salzhämolyse durch Nichtelektrolytzusätze betrachten — am besten wird wohl vorläufig von gegenseitiger Förderung gesprochen. Endlich ist bei der Erklärung der Salzförderung eine dritte Möglichkeit ins Auge zu fassen, die von Bechhold gelegentlich der Diskussion über die Salzförderung der Desinfektionswirkung des Phenols hervorgehoben wurde. Von Bechhold und Ziegler ist nämlich gezeigt worden, daß verschiedene Substanzen die Durchlässigkeit von Gallerten für Elektrolyte und Nichtelektrolyte in positivem oder negativem Sinne beeinflussen können; dasselbe gilt natürlich auch für verschiedene Membranen. Hier macht sich der Einfluß von Neutralsalzen besonders bemerkbar, indem manche derselben eine Quellung, andere dagegen eine Entquellung der Membranstoffe bewirken und dadurch die Aufnahmefähigkeit der Plasmahaut für verschiedene Stoffe in mannigfacher Weise modifizieren. In diesem Sinne sprechen die Versuche von Fluri und Meurer an Pflanzen.

Hämolyseförderung durch Glyzerin und Zucker. Außer den Neutralsalzen habe ich noch im Hinblick auf das ausgesprochene Wasserbindungsvermögen Glyzerin sowie verschiedene Zuckerarten herangezogen und tatsächlich, der Erwartung gemäß beim Saponin ausgesprochene, bei Natriumglykocholat und Aethylalkohol deutliche (nur mit Glyzerin) Förderung der Hämolyse erzielt, wie aus Tab. VIII zu ersehen ist. Bezüglich des Mechanismus dieser Förderung gelten beim Glyzerin dieselben Erwägungen, wie bei den Neutralsalzen (40 Proz. ist hier ungefähr die hämolytische Grenzkonzentration), d. h. es summiert seine hämolytische Eigenwirkung zu derjenigen des Saponins, bei den Zuckerlösungen habe ich trotz der hohen Konzentrationen keine Eigenhämolyse feststellen können. Beim Cobragift konnte ich unter Verwendung von Meerschweinchenerythrocyten die von Goebel beschriebene Förderung durch Traubenzuckerzusatz bestätigen: in einer 50-proz. Lösung betrug die Minimaldosis (für 0,1 ccm 13,2-proz. Aufschwemmung) $^1/_{16}$ der in isotonischer NaCl-Lösung wirksamen Giftdosis ($^1/_{800\,000}$ statt $^1/_{50\,000}$).

Ebenso erwies sich Traubenzucker als Aktivator des Cobragiftes bei Hammelerythrocyten — in einer halbgesättigten Zuckerlösung hämolysierte das Gift bis zu Verdünnungen von $^1/_{10\,000}$, während es sonst bekanntlich ohne Lecithinzusatz dieser Blutart gegenüber ganz wirkungslos ist. Auch in ihrem Hemmungsvermögen wirken Glyzerin und Zucker so wie Salze, indem sie Säure und die $HgCl_2$-Hämolyse hemmen (ebenso diejenige durch andere Hg-Salze). Aehnlich wie Glyzerin verhält sich Natriumglyzerophosphat, das die Eigenschaften des Glyzerins sowie eines Salzes in sich vereinigt.

Tabelle VIII.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. Hammelblutaufschwemmung sowie die unten angegebenen Mengen der Hämolytika und ihrer Zusätze. Die Resultate sind nach 30 Minuten, 2 und 15 Stunden langem Aufenthalt bei Zimmertemperatur verzeichnet. *Kursiv* = mittlere, **fett** = starke Agglutination der Erythrocyten.

Hämolytikum 0,2—0,1—0,05—0,025	Nach	Ohne Zusatz				Glyzerin 0,2				Ges. Traubenzuckerlösung 0,7				Ges. Milchzuckerlösung 0,7				Ges. Rohrzuckerlösung 0,7			
Saponin 0,25-proz.	30 Min.	Sp	0	0	0	k	k	Spch	0	k	k	k	m	k	k	st	Spch	k	0	0	0
	2 Std.	st	Spch	0	0	.	.	w	Sp	.	.	.	k	.	.	fk	Spch	.	st	0	0
	15 „	k	Sp	Spch	0	.	.	fk	m	.	.	.	.	.	.	k	Spch	.	k	Sp	Spch
Natriumglykocholat 0,2 Proz.	30 Min.	0	0	0	0	w	Spch	0	0	k	Sp	Spch	0	Sp	0	0	0	w	0	0	0
	2 Std.	w	0	0	0	k	Sp	0	0	.	Sp	Spch	*0*	Sp	0	0	0	m	Spch	0	0
	15 „	k	Spch	0	0	.	k	m	w	.	*Sp*	**Spch**	**0**	Sp	0	0	0	k	Sp	0	0
Phenol 3,3-proz.	30 Min.	k	0	0	0	Spch	0	0	0	w	Sp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2 Std.	.	0	0	0	k	w	0	0	k	Sp	0	0	0	0	0	0	w	0	0	0
	15 „	.	k	0	0	.	k	Sp	Sp	.	*Sp*	**0**	**0**	w	Sp	**0**	0	k	Sp	**0**	0
Aethylalkohol 80-proz.	30 Min.	k	0	0	0	k	0	0	0	k	w	Spch	0	Spch	0	0	0	k	Spch	0	0
	2 Std.	.	0	0	0	.	Sp	0	0	.	k	*0*	*0*	Spch	0	0	0	.	Spch	0	0
	15 „	.	0	0	0	.	k	m	w	.	N	**0**	**0**	k	Sp	0	0	.	Spch	0	0
Pyridin 20-proz.	30 Min.	k	0	0	0	st	Spch	0	0	k	Sp	0	0	k	0	0	0	w	0	0	0
	2 Std.	N	0	0	0	k	Spch	0	0	.	Sp	0	*0*	.	0	0	0	k	0	0	0
	15 „	.	k	0	0	.	st	w	w	.	*Sp*	**0**	**0**	.	w	0	0	.	w	Spch	0
Chloralhydrat $^1/_5$ ges. Lösung	30 Min.	k	0	0	0	k	0	0	0	k	w	Sp	0	w	Spch	0	0	w	0	0	0
	2 Std.	.	fk	0	0	.	0	0	0	.	m	Sp	*0*	w	Spch	0	0	st	0	0	0
	15 „	N	k	0	0	Tr	k	0	0	lG	k	*Sp*	**0**	kN	w	0	0	k	Sp	0	0
H_2SO_4 1-prom.	30 Min.	k	k	k	0	k	fk	0	0	0	0	0	0	k	fk	0	0	k	0	0	0
	2 Std.	.	.	.	w	.	k	st	0	k	0	**0**	**0**	.	k	Spch	0	.	k	0	0
	15 „	N	N	N	w	.	.	k	k	N	kN	kN	**0**	.	.	w	0	Tr	Tr	KN	w
KOH $^1/_{20}$ n	30 Min.	k	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**0**	0	0
	2 Std.	.	w	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15 „	.	k	m	0	Sp	Sp	Spch	Spch	**Sp**	**Sp**	**Sp**	**0**	0	0	0	0	0	0	0	0
O	30 Min.			0				0				0				0				0	
	2 Std.			0				0				0				0				0	
	15 „			0				w				0				**0**				0	

Hemmung der Säurehämolyse durch Salze. Wenn wir die Reihe derjenigen Hämolytika überblicken, bei denen eine Förderung durch Salz- resp. Glyzerin- oder Zuckerzusatz zu erzielen war, so finden wir als ihr gemeinames Kennzeichen, daß sie entweder selbst mehr oder minder indifferente organische Lösungmittel darstellen oder darin löslich sind. Ist es die damit meist Hand in Hand gehende Lipoidlöslichkeit oder die Kapillaraktivität (Haftdruckherabsetzung nach Traube) dieser Stoffe, die bei dem Salzsynergismus in Betracht kommt, oder ist beides der Fall — läßt sich jetzt nicht entscheiden. Die Begünstigung durch Salze ist aber an eine Bedingung gebunden — die betreffenden Stoffe dürfen keinen sauern Charakter aufweisen, während organische Basen, wie Pyridin, Chinolin, Antipyrin von Neutralsalzen in ihrer hämolytischen Wirkung meist gesteigert werden. Saure lipoidlösliche Substanzen, wie Acetamid, Formamid, Acetin, Triacetin, Ameisensäure, Buttersäure, Milchsäure, Oleinsäure, ölsaures Natrium (wo die hydrolytisch abgespaltene Oleinsäure das wirksame hämolytische Agens darstellt), käufliches Lecithin werden in ihrer Wirkung von Neutralsalzen gehemmt, ebenso wie andere saure Stoffe.

Diese Hemmung der Säurehämolyse durch Neutralsalze ist wahrscheinlich in Analogie zu setzen mit der gleichen Beeinflussung der Wasserhämolyse. Bekanntlich hemmen verschiedene Neutralsalze die Wasserhämolyse und darauf beruht ja die Isotonie der nicht allzu verdünnten Neutralsalzlösungen. Führt man nun die Säurehämolyse in Uebereinstimmung mit Fischer darauf zurück, daß die Eiweißstoffe des Stromas unter dem Einfluß der H-Ionen quellen, d. h. ihre Affinität zum Wasser erhöhen, so erscheint dann die Salzhemmung als Ausdruck des Haftdruckes der Salze, der die Diffusion von Wasser in das Blutkörperchen hintanhält.

Damit würde die Beobachtung übereinstimmen, daß sonstige Zeichen einer Säureeinwirkung wohl vorhanden sind, trotz der Salzhemmung — nämlich die Umwandlung des Hämoglobins sowie die Koagulation der Blutkörperchen.

In solchen Salz-Säuregemischen werden nämlich die Erythrocyten braun verfärbt, sodann aber, wenn man sie abzentrifugiert und in Wasser suspendiert, gehen sie nicht in Lösung. Es wurde also durch den Salzzusatz nur der Austritt des Hämoglobins verhindert, nicht aber der Eintritt der H-Ionen in die Blutkörperchen. Mit der Auffassung der Säurehämolyse als einer besonderen Art von Wasserhämolyse würde auch die von Hamburger festgestellte und von mir bestätigte Beobachtung gut übereinstimmen, daß geringe, an sich unwirksame Säurezusätze die Wasserhämolyse fördern.

Neutralsalze und Alkalihämolyse. Was die Alkalihämolyse betrifft, fand ich bei Zusatz von NaCl (2 Mol.-Konz.), LiCl (0,1 Mol.-Konz.) schwache Hemmung, bei Zusatz von $CaCl_2$ (0,5 Mol.-Konz.), sowie $SrBr_2$ (0,2 Mol.-Konz.) Förderung der Hämolyse durch KOH. Aehnliche Beeinflussung fand ich beim Trimethylamin. Die Hemmung ist, wenn vorhanden, sehr begrenzt, da sie nur bei der eben lösenden KOH-Konzentration festzustellen ist, bei höheren Konzentrationen ist nur eine ziemlich beschränkte Verspätung der Hämolyse festzustellen, während die Hemmung der Säurehämolyse durch Salze auf höhere Säurekonzentration sich erstreckt (s. Tab. IX). Bemerkenswert ist dabei die Erscheinung,

daß da, wo die Laugenhämolyse gehemmt wird, auch die durch KOH bewirkte Umwandlung des Hämoglobins, die sich durch braune bis grüne

Tabelle IX.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung sowie die unten angegebenen Mengen von KOH sowie der gesättigten Salzlösungen. Die Resultate wurden nach 30 Minuten, 1, 2 und 15 Stunden langem Aufenthalt bei Zimmertemperatur aufgenommen. br = braun, gr = grün, grbr = grünlichbraun, rbr = rotbraun. Die Färbung bezieht sich auf die Flüssigkeit.

Ges. Salzlösung	Nach	KOH-Gehalt						
		$^2/_{25}$ n.	$^1/_{25}$ n.	$^1/_{50}$ n.	$^1/_{100}$ n.	$^1/_{200}$ n.	$^1/_{400}$ n.	0
0	30 Min.	k-br	k	k	fk	0	0	0
	1 Std.	.	.	.	k	0	0	0
	2 „	.	.	.	.	Spch	0	0
	15 „	grbr	rbr	.	.	k	Spch	0
Ges. NaCl-Lösung 0,1	30 Min.	k	k	k	fk	0	0	0
	1 Std.	rbr	.	.	k	0	0	0
	2 „	.	.	.	.	st	0	0
	15 „	grbr	.	.	.	k	0	0
Ges. NaCl-Lösung 0,2	30 Min.	k	k	k	0	0	0	0
	1 Std.	.	.	.	fk	0	0	0
	2 „	.	.	.	k	0	0	0
	15 „	grbr	.	.	.	k	0	0
Ges. NaCl-Lösung 0,4	30 Min.	k	k	k	0	0	0	0
	1 Std.	.	.	.	m	0	0	0
	2 „	.	.	.	k	0	0	0
	15 „	br	.	.	.	Sp	Spch	Spch
Ges. LiCl-Lösung 0,1	30 Min.	k	k	k	0	0	0	0
	1 Std.	.	.	.	0	0	0	0
	2 „	.	.	.	Spch	0	0	0
	15 „	rbr	.	.	k	Spch	Spch	Spch
Ges. LiCl-Lösung 0,4	30 Min.	k-br	k-br	fk	Spch	Spch	Spch	Spch
	1 Std.	.	.	rbr	st-rbr	st-rbr	m-rbr	m
	2 „	.	.	k	fk	fk	fk	fk
	15 „	gr	grbr	lG	kN	kN	kN	k
Ges. $CaCl_2$-Lösung 0,1	30 Min.	k	k	k	k	0	0	0
	1 Std.	.	.	.	.	st	0	0
	2 „	.	.	.	.	k	0	0
	15 „	N	N	N	N	.	st	0
Ges. $CaCl_2$-Lösung 0,4	30 Min.	kN	kN	k	k	k	k	Spch
	1 Std.	.	.	.	.	.	.	st
	2 „	.	.	N	.	.	.	k
	15 „	gr	gr	rbr	N-rbr	N-rbr	N	k
Ges. $SrBr_2$-Lösung 0,1	30 Min.	k-br	k	k	k	Sp	0	0
	1 Std.	grbr	rbr	.	.	m	0	0
	2 „	gr	br	.	.	fk	0	0
	15 „	.	gr	br	.	k	Sp	0
Ges. $SrBr_2$-Lösung 0,4	30 Min.	k-br	k-br	k-rbr	k	k	k	Spch
	1 Std.	grbr	grbr	br	.	.	.	st
	2 „	gr	gr	grbr	rbr	rbr	rbr	k
	15 „	.	.	gr	N	lG	lG	lG

Verfärbung kundgibt, ausbleibt, da, wo die Hämolyse verstärkt wirkt, eine Steigerung erfährt. Aehnlich liegen die Verhältnisse bei der NH_3-Hämolyse, bei Na_2CO_3 tritt entsprechend seiner Doppelnatur als Alkali und Salz durch konzentrierte Salze eine Verstärkung der hemmenden Salzkomponente ein und die Hämolyse bleibt aus.

Hemmung der Wasserhämolyse durch Alkalien und alkalische Salze. Besonderes Interesse beansprucht die ebenfalls von Hamburger festgestellte und von mir bestätigte Tatsache, daß fixe Alkalien (ebenso wie die Säurehämolyse) die Wasserhämolyse hemmen, und zwar sind natürlich dazu unterlösende Konzentrationen davon zu verwenden (s. Tab. X).

Tabelle X.

Es wurden folgende drei Gemische hergestellt:

A { H_2SO_4 $^1/_{5000}$ isoton. 0,3 ccm; isoton. NaCl-Lösung 1,1 „; gew. Hammelblut 0,1 „

B { isoton. NaCl-Lösung 1,4 ccm; gew. Hammelblut 0,1 „

C { KOH $^1/_{50}$ n. isoton. 0,3 ccm; isoton. NaCl-Lösung 1,1 „; gew. Hammelblut 0,1 „

Nach 5 Minuten langem Kontakt bei Zimmertemperatur wurden je 0,2 ccm jedes der drei Blutgemische mit verschiedenen H_2O-Mengen versetzt und die Proben mit isoton. NaCl-Lösung auf je 1 ccm aufgefüllt. Die Resultate sind nach 15 und 30 Minuten sowie 1 und 20 Stunden bei Zimmertemperatur verzeichnet.

Gemisch	Kubikzentimeter H_2O:	0	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
A	15 Min.	0	Sp	fk	k	k	k
	30 „	0	w	fk	.	.	.
	1 Std.	0	w	k	.	.	.
	20 „	0	m	.	.	.	.
B	15 Min.	0	0	Spch	fk	k	k
	30 „	0	0	Sp	fk	.	.
	1 Std.	0	Spch	w	k	.	.
	20 „	0	Sp	w	.	.	.
C	15 Min.	0	0	0	Sp	fk	k
	30 „	0	0	Spch	Sp	fk	.
	1 Std.	0	0	Spch	w	k	.
	20 „	0	Spch	Sp	w	.	.

Verwendet man nicht allzu starke selbstlösende Konzentrationen von KOH, so ist zunächst eine Hemmung der Wasserhämolyse (die bekanntlich momentan eintritt) zu beobachten, sodann aber tritt die KOH-Hämolyse unbehindert ein. Bei stärker und schneller lösenden Konzentrationen verwischt sich das Bild. Weniger ausgeprägt ist die Hemmung der Wasserhämolyse bei Verwendung von organischen Basen, wie Pyridin, Antipyrin.

Besser als bei dem schnell wirkenden KOH läßt sich diese Hemmung bei Verwendung der Alkalikarbonate beobachten, auch ist sie quantitativ stärker. Hier erfolgt die Eigenhämolyse sehr spät und läßt genügend Zeit zur bequemen Beobachtung der Hemmung, außerdem sind hier an der Hemmung außer den OH-Ionen wahrscheinlich auch undissoziierte Salzmoleküle beteiligt (s. Tab. XI).

Tabelle XI.

Jedes Röhrchen enthält die unten angegebenen Mengen von Soda sowie von H_2O und wird mit isoton. NaCl-Lösung auf 1 ccm Gesamtvolumen aufgefüllt. Die Resultate sind nach 15 Minuten, $2^1/_2$ und 22 Stunden verzeichnet.

(Na_2CO_3 + 10 aq.)-Gehalt	Nach	H_2O-Kubikzentimeter						
		0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8	0
0	15 Min.	0	st	k	k	k	k	0
	$2^1/_2$ Std.	0	fk	.	.	.	.	0
	22 Std.	Spch	fk	.	.	.	.	0
2-proz.	15 Min.	0	0	0	0	0	0	0
	$2^1/_2$ Std.	k	k	k	k	k	k	k
	22 Std.	.	.	.	.	.	.	.
0,5-proz.	15 Min.	0	0	0	0	w	k	0
	$2^1/_2$ Std.	fk	fk	fk	fk	fk	.	fk
	22 Std.	k	k	k	k	k	.	k
0,1-proz.	15 Min.	0	0	0	w	k	k	0
	$2^1/_2$ Std.	0	0	0	w	.	.	0
	22 Std.	st	fk	fk	fk	.	.	st

Noch ausgesprochener ist die Hemmung der Wasserhämolyse bei Verwendung von anderen alkalischen Salzen, wie KCN, $KAsO_2$ u. a., selbst in ziemlich schwachen Konzentrationen. Werden von KCN Konzentrationen angewandt, die selber hämolysieren, so kann man bei dem langsamen Verlauf dieser Hämolyse zuerst ein Stadium ausgesprochener Hemmung der Wasserhämolyse beobachten, dann erst erfolgt allmählich die KCN-Hämolyse, die also vom Wasser nicht gehemmt wird (s. Tab. XII u. XIII).

Tabelle XII.

Jedes Röhrchen enthält 0,2 ccm einer 6,6-proz. gewaschenen Hammelblutaufschwemmung, die mit 1, 0,5, 0,2 resp. 0 Proz. KCN versetzt ist, außerdem die unten angegebenen Mengen H_2O und wird mit isoton. NaCl-Lösung auf 1 ccm aufgefüllt. Die Resultate sind nach 20 Minuten, $1^1/_2$ und 16 Stunden Aufenthalt bei Zimmertemperatur verzeichnet.

KCN-Gehalt der Blutaufschwemmung	Nach	H_2O-Kubikzentimeter								
		0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0
0	20 Min.	0	st	fk	k	k	k	k	k	0
	$1^1/_2$ Std.	0	st	k	.	.	.	.	.	0
	16 Std.	Sp	fk	.	.	.	.	.	.	0
0,2-proz.	20 Min.	0	0	m	st	fk	k	k	k	0
	$1^1/_2$ Std.	0	0	m	st	k	.	.	.	0
	16 Std.	Sp	Sp	st	fk	.	.	.	.	Sp
0,5-proz.	20 Min.	0	0	0	0	w	fk	k	k	0
	$1^1/_2$ Std.	0	0	0	Spch	w	k	.	.	0
	16 Std.	Sp	w	w	st	k	.	.	.	Sp
1,0-proz.	20 Min.	0	0	0	0	Spch	Sp	m	fk	0
	$1^1/_2$ Std.	0	0	0	0	Spch	Sp	fk	k	0
	16 Std.	k	k	k	k	k	k	k	.	k

Tabelle XIII.

Jedes Röhrchen enthält die unten angegebenen Mengen von H_2O sowie von gesättigter $KAsO_2$-Lösung sowie 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung und wird mit isoton. NaCl-Lösung auf 1 ccm aufgefüllt. Die Resultate sind nach 1 und 15 Stunden bei Zimmertemperatur aufgenommen. *Kursiv* = Agglutination der Erythrocyten.

$KAsO_2$-Gehalt der Proben	Nach	H_2O-Gehalt								
		0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0
0	1 Std.	0	Sp	w	k	k	k	k	k	0
	15 „	Spch	Sp	w	.	.	.	.	.	0
0,1 ccm	1 „	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15 „	*Sp*	*Sp*	*Sp*	*Sp*	*Sp*	*Sp*	*Sp*	*Sp*	*Sp*
0,02 ccm	1 „	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15 „	0	0	0	0	0	Spch	Spch	Spch	0
0,005 ccm	1 „	0	0	0	0	0	Spch	fk	fk	0
	15 „	0	0	0	Spch	Sp	Sp	fk	k	0

Der ausgesprochene antihämolytische Effekt des $KAsO_2$ beruht nicht etwa auf einer Umwandlung der Erythrocytensubstanz; wenn man nämlich eine mit $KAsO_2$ versetzte Blutkörperchenaufschwemmung auch nach längerem Kontakt zentrifugiert und den Bodensatz der Erythrocyten in dest. H_2O aufschwemmt, erfolgt sofortige Hämolyse. Es muß also wohl die Hemmung auf einer (physikalischen?) Reaktion zwischen dem Arsenit und dem Wasser beruhen.

Alkalien fördern die Hämolyse durch Lipoidsolvendien und lipoidlösliche Stoffe. Daß Alkalien sowie alkalische Salze außer der Wasserhämolyse auch die Säurehämolyse hemmen, erscheint ganz natürlich. Das trifft jedoch nicht zu für die lipoidlöslichen höheren Fettsäuren (Oleinsäure), die eine ausgesprochene Förderung durch Alkalizusätze erfahren.

Auch Seifen und Lecithin, deren hämolytische Wirkung wohl ebenfalls auf höhere Fettsäuren zurückzuführen sind, verhalten sich ähnlich. Daß die Erscheinung irgendwie mit der Lipoidlöslichkeit zusammenhängt, wird wahrscheinlich durch die Beobachtung, daß auch das lipoidlösliche Sublimat (ebenso $HgBr_2$, HgJ_2), das sauren Charakter aufweist (und von Salzen ebenso, wie Säure gehemmt wird), durch Alkalizusatz stark gefördert wird. Sodann aber spricht in diesem Sinne die Tatsache, daß auch eine ganze Reihe anderer Stoffe, die in Lipoidsolventien und wahrscheinlich auch in Lipoiden löslich sind, dieselbe Beeinflussung durch Alkalien aufweisen. Hier wären zu nennen: Alkohol, Aether, Aceton, Chloroform, Phenol, Antipyrin, Guajakol, Saponin, Chloralhydrat, Harnstoff, Natriumglykocholat, KJ. Der Grad dieser Beeinflussung ist ähnlich wie bei der Salzförderung derart, daß man die Erscheinung am besten als Summation zweier unterlösender Dosen auffassen kann, bezüglich des Mechanismus ist vorderhand nichts Bestimmtes auszusagen.

Synergismus der lipoidlöslichen Hämolytika. In besonders zahlreichen Versuchen wurden sodann verschiedene lipoidlösliche Hämolytika in verschiedensten Kombinationen untereinander ge-

Tabelle XIV.

Jedes Röhrchen enthält in einem Gesamtvolumen von 1 ccm 0,2 ccm 6,6-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung sowie die unten angegebenen Mengen je zweier Hämolytika. Die Resultate sind nach 15 Minuten, 1 und 15 Stunden langem Aufenthalt bei Zimmertemperatur verzeichnet. — = nicht gemacht.

	Nach	0 (Kontrolle)	Aethylalkohol 9,10	Aceton 0,10	Aether ges. Lös. in isot. NaCl-Lös. 0,5	KOH $^1/_{125}$ n. 0,10
Saponin 0,25 Proz.	15 Minuten	st 0 0 0	k fk Spch 0	k m 0 0	k k Spch 0	st 0 0 0
0,2—0,1—0,05—0,025	1 Stunde	k Spch 0 0	. k w 0	. fk Sp 0	. . Sp 0	k Spch 0 0
	15 Stunden	. m Spch 0	. . k k	. k k fk	. . Sp Spch	. fk w Sp
Natriumglykocholat 0,2 Proz.	15 Minuten	k 0 0 0	k k Spch 0	k k w 0	k k m 0	fk w 0 0
0,2—0,1—0,05—0,025	1 Stunde	. 0 0 0	. . fk 0	. . k 0	. . k Spch	k w Spch 0
	15 Stunden	. k Spch 0	. . k k	. . . m	. . . Spch	. w Sp Sp
Aethylalkohol	15 Minuten	k fk 0 0	—	k k fk Sp	k Sp 0 0	k fk 0 0
0,5—0,15—0,10—0,05	1 Stunde	. k Spch 0	—	. . k st	. w 0 0	. k Spch 0
	15 Stunden	. . Sp 0	—	. . . fk	. k Sp Spch	. . k st
Aceton	15 Minuten	k 0 0 0	k fk m 0	—	k Spch 0 0	k k Spch 0
0,2—0,15—0,10—0,05	1 Stunde	. Spch 0 0	. k fk Sp	—	. fk 0 0	. . st Spch
	15 Stunden	. k 0 0	. . k st	—	. k w 0	. . k Sp
Phenol 3,3 Proz.	15 Minuten	fk 0 0 0	k w 0 0	k k Spch 0	k Spch 0 0	k 0 0 0
0,2—0,1—0,05—0,025	1 Stunde	k 0 0 0	. st Spch 0	. . fk Sp	. Spch 0 0	. Sp Spch 0
	15 Stunden	. k Spch 0	. k k k	. . k st	. k w 0	. k Sp 0
Pyridin 20 Proz.	15 Minuten	k 0 0 0	k k 0 0	k k Spch 0	k Spch 0 0	k st 0 0
0,2—0,1—0,05—0,025	1 Stunde	. 0 0 0	. . Sp 0	N . st 0	. k 0 0	. k Spch 0
	15 Stunden	N k Spch 0	N . k k	. . k st	N . Sp 0	N . k Sp

	Nach	0 (Kontrolle)	Aethylalkohol 9,10	Aceton 0,10	Aether ges. Lös. in isot. NaCl-Lös. 0,5	KOH $^1/_{125}$ n. 0,10
Chinolin ges. Lös. in isoton. NaCl-Lös. 0,4—0,3—0,2—0,1	15 Minuten	0 0 0 0	Spch 0 0 0	Spch 0 0 0	0 0 0 0	st Spch 0 0
	1 Stunde	Spch 0 0 0	fk w 0 0	fk Sp 0 0	k k 0 0	k Spch Spch 0
	15 Stunden	k fk 0 0	k k k w	k k fk Sp	. . Spch 0	. k k Sp
Chloralhydrat ges. Lös. in isot. NaCl-Lös. $^1/_{10}$ verd. 0,2—0,1—0,05—0,025	15 Minuten	k 0 0 0	k k Sp 0	k k st 0	k Spch 0 0	k w w Spch
	1 Stunden	. Sp 0 0	. . k 0	. . k 0	. k Spch 0	. k w Spch
	15 Stunden	N k Sp 0	N . . k	N N . fk	N . k 0	N . k Sp
Harnstoff ges. Lös. in isot. NaCl-Lös. 0,4—0,3—0,2—0,1	15 Minuten	st Sp 0 0	k st Sp 0	k fk st 0	fk st Spch 0	fk st w Sp
	1 Stunde	fk Sp Spch 0	. fk w Spch	. k fk Spch	k fk Spch 0	k st w Sp
	15 Stunden	fk Sp Spch 0	. k st Spch	. . fk Spch	. fk w Spch	. fk w Sp
Trimethylamin 3 Proz. 0,4—0,3—0,2—0,1	15 Minuten	0 0 0 0	w w Sp 0	k st Spch 0	fk st Spch 0	fk st w Sp
	1 Stunde	Spch Spch 0 0	k fk w 0	. k k 0	k fk Spch 0	k st w Sp
	15 Stunden	k k m w	. k k k	. . . m	. fk w Spch	. fk st Sp
Thymol ges. Lös. in isoton. NaCl-Lös. 0,2—0,1—0,05—0,025	15 Minuten	0 0 0 0	k 0 0 0	k 0 0 0	k 0 0 0	fk 0 0 0
	1 Stunde	fk 0 0 0	. fk 0 0	. fk 0 0	. 0 0 0	k st 0 0
	15 Stunden	k k Spch 0	. k k Spch	. k k Sp	. k Sp 0	. k st 0
KOH $^1/_{25}$ n. 0,2—0,1—0,05—0,025	15 Minuten	fk 0 0 0	k Spch 0 0	—	—	—
	1 Stunde	k Sp 0 0	. k Spch 0	—	—	—
	15 Stunden	. k w 0	. . k st	—	—	—
0 (Kontrolle)	15 Minuten	0	0	0	0	0
	1 Stunde	0	0	0	0	0
	15 Stunden	0	0	Sp	0	Sp

Tabelle XV.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung, die unten angegebenen Mengen von $HgCl_2$-Lösung sowie die unten spezifizierten Zusätze. Die Resultate sind nach 30 Minuten, $2^1/_2$ und 19 Stunden langem Aufenthalt bei Zimmentemperatur verzeichnet.

Zusatz	Nach	$HgCl_2$-Lösung									0
		$^1/_{5000}$			$^1/_{40\,000}$			$^1/_{320\,000}$			
		0,4	0,2	0,1	0,4	0,2	0,1	0,4	0,2	0,1	
0 (Kontrolle)	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$2^1/_2$ Std.	Sp	m	fk	st	Sp	Spch	0	0	0	0
	19 „	k	k	k	k	k	k	Sp	0	0	0
Aethylalkohol 0,10	30 Min.	k	k	k	k	k	k	Spch	0	0	0
	$2^1/_2$ Std.	.	.	.	.	.	.	fk	0	0	0
	19 „	.	.	.	.	.	.	k	Spch	0	0
Aceton 0,10	30 Min.	k	k	k	k	w	0	0	0	0	0
	$2^1/_2$ Std.	.	.	.	.	k	w	w	Spch	0	0
	19 „	.	.	.	.	.	k	k	fk	Sp	0
Aether ges. Lös. in isot. NaCl-Lös. 0,50	30 Min.	Spch	Spch	Sp	Sp	0	0	0	0	0	0
	$2^1/_2$ Std.	k	k	k	k	k	k	w	0	0	0
	19 „	.	.	.	.	.	.	fk	Spch	0	0
Phenol 0,32 Proz. 0,50	30 Min.	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0
	$2^1/_2$ Std.	k	k	k	k	k	w	0	0	0	0
	19 „	.	.	.	.	.	k	m	0	0	0
Chinin-HCl ges.Lös. in isot. NaCl-Lös. 0,20	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$2^1/_2$ Std.	Sp	Sp	k	k	k	Sp	0	0	0	0
	19 „	w	w	—	—	—	k	k	Spch	0	0
KOH $^1/_{350}$ n. 0,50	30 Min.	0	k	k	fk	fk	Sp	Sp	Spch	0	0
	$2^1/_2$ Std.	Sp	.	.	k	k	k	k	k	Spch	0
	19 „	k	.	.	.	.	.	.	.	k	Sp
Ges. NaCl-Lös. 0,50	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$2^1/_2$ Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	19 „	st	Sp	Sp	Sp	Spch	Spch	Spch	Spch	Spch	Spch
Ges. $MgSO_4$-Lös. 0,50	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$2^1/_2$ Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	19 „	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Formaldehyd 2 Proz. 0,50	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$2^1/_2$ Std.	Spch	fk	0	0	0	0	0	0	0	0
	19 „	Sp	k	0	0	0	0	0	0	0	0
Ameisensäure $^1/_{15\,000}$ 0,50	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$2^1/_2$ Std.	k	k	k	w	Sp	0	0	0	0	0
	19 „	.	.	.	k	w	w	Sp	Spch	Spch	Spch

prüft, und es hat sich, abgesehen von Gradunterschieden, herausgestellt, daß diese Stoffe ihre hämolytische Wirkung gegenseitig fördern, und zwar wieder in der Weise, daß das Resultat sich als Summe der (an sich unwirksamen) Partialwirkungen darstellt. Die Stoffe, die hier in Betracht kommen, sind hier wieder dieselben, die wir bei der Salzförderung kennen gelernt haben: verschiedene Alkohole, Aceton, Aether, Kohlenstofftetrachlorid, Chloroform, Chloralhydrat, Bromalhydrat, Phenol,

Thiophenol, o-Chlorphenol, Guajakol, Thymol, Phenylacetat, Harnstoff, Thioharnstoff, Methylharnstoff, Salicylaldehyd, Vanillin, Ameisen-, Butter-, Milch- und Oleinsäure, Neurin, Saponin, Sapotoxin, Natriumglykocholat, Natriumtaurocholat, Chininchlorhydrat, Pyridin, Piperidin, Chinolin, Isochinolin, Antipyrin, fixe Alkalien; alkalische Salze: KJ, KCNS, NH_4CNS und andere NHg-Salze, eine Reihe von (lipoidlöslichen) Schwermetallsalzen, CrO_3, Phosphorwolframsäure, Pikrinsäure, Thioessigsäure, J, Br. Bezüglich der Einzelheiten sei auf die beigegebene Generaltabelle (XXXII) sowie die als Beispiele angeführten Versuchsprotokolle (Tab. XIV, XV) verwiesen.

Cobragift und Bakteriohämotoxine. Eine besondere Besprechung scheint mir das Verhalten des Cobrahämolysins sowie mancher Bakteriohämotoxine zu verdienen. Wählt man eine empfindliche Blutart, etwa Meerschweinchenblut (s. Tab. XVI), so wird das Cobragift durch Alkohol-Aether-Phenol-KOH-Chininchlorhydrat-Traubenzucker-Harnstoffzusatz deutlich bis sehr stark gefördert — verhält sich also wie ein lipoidlösliches Hämolytikum, dagegen wird es durch konzentrierte Salzlösungen

Tabelle XVI.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Meerschweinchenblutaufschwemmung, die unten angegebenen Mengen der Cobragiftlösung sowie der verschiedenen Zusätze. Die Resultate sind nach 30 Minuten, 6 und 16 Stunden langem Aufenthalt bei Zimmertemperatur verzeichnet.
Kursiv = Erythrocyten agglutiniert.

Zusatz	Nach	Cobragift $^1/_{20\,000}$						
		0,4	0,2	0,1	0,05	0.025	0,012	0
0	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0
(Kontrolle)	6 Std.	fk	0	0	0	0	0	0
	16 Std.	k	Sp	Sp	Spch	0	0	0
Aethylalkohol	30 Min.	k	k	w	0	0	0	0
0,10	6 Std.	.	.	k	k	w	w	0
	16 Std.	.	.	.	.	k	fk	0
Aceton	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0
0,10	6 Std.	Spch	Spch	Spch	Spch	Spch	Spch	0
	16 Std.	Sp	Sp	Sp	Sp	Sp	Sp	0
Aethyläther	30 Min.	k	fk	Spch	0	0	0	0
ges. Lösung in isot.	6 Std.	.	k	fk	0	0	0	0
NaCl-Lösung 0,50	16 Std.	.	.	k	0	0	0	0
Phenol 0,32-proz.	30 Min.	k	Sp	0	0	0	0	0
0,50	6 Std.	.	k	k	fk	Spch	0	0
	16 Std.	.	.	.	k	fk	st	Spch
Traubenzucker	30 Min.	k	k	0	0	0	0	0
ges. Lösung in H_2O	6 Std.	.	.	*Spch*	*Spch*	*0*	*0*	*0*
0,50	16 Std.	.	.	k	k	fk	fk	*0*
Chinin-HCl	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0
ges. Lösung in isot.	6 Std.	st	w	Sp	Spch	0	0	0
NaCl-Lösung 0,20	16 Std.	k	k	fk	w	Sp	Sp	Sp
Harnstoff	30 Min.	Spch	0	0	0	0	0	0
ges. Lösung in isot.	6 Std.	k	k	k	fk	Spch	0	0
NaCl-Lösung 0,20	16 Std.	.	.	.	k	m	Sp	Spch

Tabelle XVII.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung, außerdem die unten angegebenen Mengen der Cobragiftlösung sowie der verschiedenen Zusätze. Die Resultate sind nach 1 und 15 Stunden langem Aufenthalt bei Zimmertemperatur verzeichnet.

Zusatz	Nach	Cobragift ‰						
		4,0	2,0	1,0	0,4	0,2	0,1	0
0	1 Std.	0	0	0	0	0	0	0
(Kontrolle)	15 „	*0*	0	0	0	0	0	0
Aethylalkohol	1 „	0	0	0	0	0	0	0
0,10	15 „	k	k	k	k	k	Spch	Spch
Aceton	1 „	0	0	0	0	0	0	0
0,10	15 „	k	k	fk	st	Sp	Sp	0
Aethyläther	1 „	0	0	0	0	0	0	0
ges. Lösung in isot. NaCl-Lösung 0,50	15 „	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	0
Phenol 0,32-proz.	1 „	0	0	0	0	0	0	0
0,50	15 „	k	k	st	w	0	0	0
KOH $^1/_{250}$ n.	1 „	0	0	0	0	0	0	0
0,50	15 „	0	0	0	0	0	0	0
Chinin-HCl	1 „	0	0	0	0	0	0	0
ges. Lösung in isot. NaCl-Lösung 0,20	15 „	k	fk	Sp	Spch	0	0	0
Harnstoff	1 „	0	0	0	0	0	0	0
ges. Lösung in isot. NaCl-Lösung 0,20	15 „	0	0	0	0	0	0	0
Traubenzucker	1 „	k	k	st	0	0	0	0
ges. wäss. Lösung 0,50	15 „	.	.	k	k	k	k	*0*

gehemmt, was auf eine lipoidlösliche höhere Fettsäure hinweisen würde. Merkwürdigerweise hemmt auch Acetonzusatz, was bei den Fettsäuren nicht der Fall ist. Noch interessanter gestalten sich die Verhältnisse bei Verwendung einer „unempfindlichen" Blutart wie Hammelblut. Hier sind selbst starke Cobragiftdosen unwirksam — wie allgemein angenommen wird, weil disponibles Lecithin in den Blutkörperchen fehlt. Nun ergibt sich aber bei synergetischen Versuchen, daß unter Mitwirkung von Alkohol, Aceton, Phenol, Chinin-Chlorhydrat, Traubenzucker doch noch Hämolyse zustande kommt, wenn auch im allgemeinen nur durch höhere Konzentrationen als bei Verwendung von „empfindlichen" Blutkörperchen. Man wird natürlich diesen Versuchen, die noch fortgesetzt werden sollen, bei der Aufstellung einer Theorie der Cobragifthämolyse Rechnung tragen müssen.

Mit Bakteriohämotoxinen wurden einige orientierende Versuche angestellt. Tetanotoxin wurde von stärkeren Harnstoffkonzentrationen sowie von KOH deutlich, von halbgesättigtem NaCl schwächer gehemmt, von Aether und Phenol etwas gefördert, Vibrionenhämotoxine (Cholera, El Tor V, Metschnikoff) von Alkohol, Aceton, KOH, Harnstoff, Chininchlorhydrat, NaCl gehemmt, von Aether und Phenol gefördert (siehe

Tabelle XVIII.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm Gesamtvolumen die unten angegebenen Mengen der Hämotoxine (5-tägige Kulturen in Cholerabouillon, durch Zentrifugieren nach Möglichkeit von Bakterien befreit) sowie die Zusätze, außerdem 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung. Resultate nach 1 Stunde bei 43° C sowie nach 12 weiteren Stunden bei Zimmertemperatur. — = Probe nicht angestellt.

Zusatz	Cholera Palm. Labor.									V. El Tor V, verd. $^1/_2$									V. Metschnikoff W, verd. $^1/_2$								Kontrolle
	0,4	0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006	0,003	0,0015	0,4	0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006	0,003	0,0015	0,4	0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006	0,003	0,0015	
0 (Kontrolle)	k	k	k	k	k	fk	m	Sp	0	k	k	k	k	k	k	fk	m	Sp	k	k	k	k	k	k	st	m	Spch	0
Alkohol 0,10	k	st	fk	k	Spch	0	—	—	—	k	k	k	k	m	Sp	—	—	—	k	k	k	fk	w	Spch	—	—	—	0
KOH $^1/_{250}$ n. 0,50	k	k	fk	Sp	Spch	0	—	—	—	k	k	k	w	Sp	0	—	—	—	k	k	k	m	Spch	0	—	—	—	0
Harnstoff ges. Lösung 0,20	0	0	0	0	0	0	—	—	—	w	Sp	0	0	0	0	—	—	—	0	0	0	0	0	0	—	—	—	0
NaNl ges. Lösung 0,50	0	0	0	0	0	0	—	—	—	k	fk	st	m	Sp	Spch	—	—	—	m	w	w	Sp	0	0	—	—	—	0
Aether ges. Lösung in isot. NaCl-Lösung 0,50	—	—	—	k	k	k	fk	Sp	0	—	—	—	k	k	k	k	st	Sp	—	—	—	k	k	k	fk	w	Spch	0
Phenol 0,32 % 0,50	—	—	—	k	k	k	st	Sp	0	—	—	—	k	k	k	k	m	Sp	—	—	—	k	k	k	fk	w	Spch	0
Chinin-HCl ges. Lösung 0,20	—	—	—	Spch	Spch	0	0	0	0	—	—	—	k	k	w	Sp	0	0	—	—	—	fk	m	w	Spch	0	0	0

Tabelle XVIII). Die Verhältnisse sind hier natürlich angesichts der komplexen Natur der angewandten hämotoxischen Lösung nicht leicht zu übersehen, worauf übrigens auch die Unregelmäßigkeit mancher Reihen hinzuweisen scheint. Aus diesem Grunde wäre es auch gewagt, aus diesen Versuchen Schlüsse auf die chemische Natur dieser Toxine ziehen zu wollen, solange sie nicht in reinerer Form vorliegen (es wären die Befunde vielleicht an Kochsalzauszügen von Agarkulturen nachzuprüfen).

Alkohol fördert die Schwermetallsalzhämolyse. Wir haben oben bei der Darstellung der Sublimathämolyse (s. Tabelle XV) gesehen, daß durch Alkohol die Wirksamkeit des $HgCl_2$ eine ausgesprochene Steigerung erfährt (ist auch von Ritz festgestellt worden). In Verfolgung dieser Tatsache wurden auch andere Schwermetallsalze nach dieser Richtung hin untersucht und dabei nicht nur Steigerung der hämolytischen Wirkung bei solchen Salzen gefunden, die bereits in isotonischer NaCl-Lösung allein hämolysieren, sondern es trat Hämolyse auch bei solchen Salzen ein, die ohne Alkoholzusatz zwar agglutinierend, aber nicht hämolytisch wirken. Es wirkt also Alkohol steigernd bei $AgNO_3$, $AuCl_3$, K_2PtCl_6, $FeSO_4$, $SnCl_4$, $BiCl_2$, $MnCl_2$, die auch an sich hämolysieren — es trat aber außerdem Hämolyse ein bei Kombination von Alkohol (90-proz.) mit Fe_2Cl_6, $CuSO_4$, $(NH_4)_6Mo_7O_{27}+4$ Aq., Na_2WO_4, $CdCl_2$, OsO_4, $UO_2(C_2H_3O_2)_2+3$ Aq., $Pb(C_2H_3O_2)_4$, CrO_3, $P_2O_5 \cdot 20\ WoO_3 \cdot 11\ H_2O$, die an sich nur agglutinierend wirken. Negativ blieben bisher die synergetischen Versuche mit $CoCl_2$, $NiCl_2$, doch war bei beiden letzteren in schwachen Verdünnungen in der Alkoholreihe (ebenso in der Acetonreihe) Agglutination festzustellen, die sonst vermißt wurde. Bei $ZnCl_2$ war in sehr schwachen Verdünnungen in der Alkohol- und der Acetonreihe schwache Hämolyse vorhanden. Ebenso wie Schwermetallsalze verhalten sich Jod und Pikrinsäure, deren hämolytische Wirkung durch Alkohol eine beträchtliche Steigerung erfährt, weniger ausgesprochen ist dieselbe beim Brom. Es erhellt aus diesen Versuchen, daß der synergetische Versuch, in dem übrigens auch Aceton, Phenol und andere an Stelle des Alkohols Verwendung finden können, bei der Suche nach hämolytischen Wirkungen ein wertvolles Hilfsmittel in manchen Fällen abgeben kann, wo starke koagulierende Wirkungen oder mangelnde Löslichkeit des zu untersuchenden Stoffes die Hämolyse nicht zutage treten lassen.

Tabelle XIX.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutkörperchen, die unten angegebenen Mengen von Natriumwolframat, in der Reihe B unter Zusatz von 10-proz. Aethylalkohol, in der Kontrollreihe A ohne solchen. Die Ergebnisse sind nach 30 Minuten, 14 und 24 Stunden bei Zimmertemperatur festgestellt.

Reihe	Nach	Na_2WO_4 ges. Lösung							
		0,4	0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006	0
A	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0	0
	14 Std.	0	0	0	0	0	0	0	0
	24 Std.	0	0	0	0	0	0	0	0
B	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0	0
	14 Std.	k	k	k	k	w	Sp	Spch	0
	24 Std.	.	.	.	.	fk	st	Sp	0

Photodynamische Hämolyse. In die Gruppe der Hämolyseförderung durch lipoidlösliche Stoffe gehört wahrscheinlich die Steigerung der Hämolyse durch fluoreszierende Stoffe durch Alkohol. Nach den Untersuchungen von Sacharoff und Sachs wirken solche Körper, zumeist Farbstoffe, im Sonnenlicht hämolytisch und beruht wahrscheinlich diese Wirkung auf photodynamisch angeregten Oxydationsvorgängen. Eosin und Fluorescein gaben im Licht eine stärkere Hämolyse im Beisein von Alkohol sowie KOH (unterlösende Dosen). Nun ist Sauerstoff bekanntlich lipoidlöslich und dürften die Zusätze vielleicht sein Ein-

Tabelle XX.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung, die unten angegebenen Mengen von $KMnO_4$ sowie die verschiedenen Zusätze. Das Blut wird zuletzt zugesetzt. Die Resultate sind nach 1—2—15-stündigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur festgestellt.

Zusatz	Nach	$KMnO_4$ $^1/_{5000}$									
		0,4	0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006	0,003	0,0015	0
0 (Kontrolle)	1 Std.	k	k	k	k	st	0	0	0	0	0
	2 „	.	.	.	.	k	0	0	0	0	0
	15 „	.	.	.	.	.	st	0	0	0	0
Aethyläther ges. Lösung in isot. NaCl-Lösg. 0,50	1 Std.	k	k	0	0	0	0	—	—	—	0
	2 „	.	.	*0*	0	0	0	—	—	—	0
	15 „	.	.	0	*0*	0	0	—	—	—	0
Phenol 0,32-proz. 0,50	1 Std.	0	0	0	0	0	0	—	—	—	0
	2 „	0	0	0	0	0	0	—	—	—	0
	15 „	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	—	—	—	0
Chinin-HCl ges. Lösung in isot. NaCl-Lösg. 0,20	1 Std.	0	0	0	0	0	0	—	—	—	0
	2 „	0	0	0	0	0	0	—	—	—	0
	15 „	k	*m*	*Sp*	*Sp*	*Sp*	Sp	—	—	—	Sp
Harnstoff ges. Lösung in isot. NaCl-Lösg. 0,20	1 Std.	k	k	k	Spch	0	0	—	—	—	0
	2 „	.	.	.	Spch	0	0	—	—	—	0
	15 „	.	.	.	st	Spch	Spch	—	—	—	Spch
KCN 1-proz. 0,10	1 Std.	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0
	2 „	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0
	15 „	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0
$KAsO_2$ ges. Lösg. in H_2O 0,02	1 Std.	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0
	2 „	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0
	15 „	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0
NaCl ges. Lösung 0,50	1 Std.	—	—	—	Spch	0	0	0	0	0	0
	2 „	—	—	—	m	0	0	0	0	0	0
	15 „	—	—	—	k	st	Spch	Spch	Spch	Spch	Spch
LiCl ges. Lösung 0,10	1 Std.	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0
	2 „	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0
	15 „	—	—	—	*st*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	0
$BaCl_2$ ges. Lösung 0,50	1 Std.	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0
	2 „	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0
	15 „	—	—	—	st	0	0	0	0	0	0

dringungsvermögen erhöhen. Es zeigte sich bei diesen Versuchen, daß die hämolytische Wirkung von Alkohol, Aceton und KOH durch Belichtung gesteigert wird, was ebenfalls im Sinne der soeben geäußerten Hypothese spricht.

Die $KMnO_4$-Hämolyse. Dementgegen verhält sich eine andere Oxydationshämolyse — diejenige durch $KMnO_4$ — insofern abweichend, als hier Zusätze von Alkohol, Aceton, Aether, Phenol, Chininchlorhydrat, Harnstoff, Traubenzucker, Natriumglyzerophosphat hemmend wirken. Diese Hemmungswirkung erscheint begreiflich, wenn man sich die große Energie der oxydativen Wirkung des $KMnO_4$ vergegenwärtigt, die an der Substanz des Zusatzes sich erschöpft und dann die Erythrocyten intakt läßt. Ebenso erscheint es begreiflich, daß ausgesprochen reduzierende Substanzen wie H_2S, KCN, $KAsO_2$, $(NH_4)_2S$, Oxalsäure die $KMnO_4$-Hämolyse hemmen. Außerdem hemmen noch Neutralsalze wie NaCl, LiCl, $BaCl_2$ und von alkalischen K_2HPO_4. Der Mechanismus dieser Hemmungen ist vielleicht auf Hemmung der Säurewirkung ($HMnO_4$) zurückzuführen (s. Tabelle XX).

Ueber den Mechanismus der synergetischen Hämolysesteigerung. Zuletzt seien noch einige Versuche angeführt, die darauf ausgingen, den Mechanismus der synergetischen Hämolysesteigerung in manchen Kombinationen zu analysieren. Ich stellte mir nämlich die Frage, ob bei der Förderung durch Alkohol-Phenol resp. KOH-Zusatz die Anwesenheit dieser Stoffe notwendig ist beim Akt der Hämolyse, oder ob vielleicht eine Vorbehandlung der Blutkörperchen mit diesen Stoffen dazu genügen würde. Zu diesem Zwecke wurden Erythrocyten in isotonischer NaCl-Lösung mit 10-proz. Alkohol, resp. 0,16-proz. Phenol, resp. $^1/_{500}$ n. KOH aufgeschwemmt und nach 10 Minuten dauerndem Kontakt bei Zimmertemperatur die Erythrocyten abzentrifugiert und in isotonischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Sodann wurden die derart vorbehandelten Blutkörperchen der Hämolyse durch Alkohol, Aceton, Phenol, KOH, Saponin, Natriumglykocholat, Chloralhydrat, Harnstoff, Chininchlorhydrat, Pyridin sowie $HgCl_2$ in quantitativ abgestufter Reihe unterworfen, um ihre Resistenz gegenüber diesen Hämolyticis zu prüfen. Als Kontrolle dienten dieselben Erythrocyten, die unter gleichen quantitativen Verhältnissen in isotonischer NaCl-Lösung ohne Zusatz aufgeschwemmt, abzentrifugiert und wieder suspendiert wurden. Alle diese Reihen zeigen keine irgendwie in Betracht kommenden Abweichungen untereinander, vorbehandelte wie normale Erythrocyten zeigten sich in gleichem Maße empfindlich für die einzelnen Blutgifte. Es ergibt sich daraus, daß zur Erzielung des synergetischen Effektes die Anwesenheit des Alkohols, Phenols und des KOH unerläßlich ist — eine Deutung dieser Tatsache wird sich unten aus noch mitzuteilenden Versuchen ergeben. Ueber ähnliche Versuche haben bereits Wolf bei der Gallenhämolyse, Ritz bei der Sublimathämolyse berichtet.

Es wird sich noch verlohnen, die Resultate der synergetischen Versuche im Lichte der von Bürgi für die Mischnarkose aufgestellten Hypothese zu betrachten, wonach zwei Pharmaka, die den gleichen Angriffspunkt in der Zelle haben, im Gemisch ihre Wirkung addieren, zwei solche aber, die verschiedene Angriffspunkte haben, ihre Wirkung potenzieren. Von kleinen Abweichungen abgesehen habe ich in den hier dargestellten Versuchen zumeist nur einfache Summation der Effekte be-

obachten können — hin und wieder kamen geringfügige Ausschläge nach oben oder unten vor. Eine Potenzierung im eigentlichen Sinne, die über kleine Bruchteile der lösenden Dosis hinausgeht, habe ich eigentlich nur bei Schwermetallsalzen sowie beim Cobragift beobachtet. Doch scheinen mir gerade diese Beispiele zu vieldeutig, um als Beweise für die Bürgische Hypothese herangezogen werden zu können. Bei den Schwermetallsalzen und ähnlichen Eiweißfällungsmitteln muß ja Steigerung der Hämolyse nicht immer als Steigerung der Wirksamkeit betrachtet werden, da hier oft bei niedrigeren Konzentrationen Hämolyse, bei höheren nur Agglutination bei Ausbleiben von Hämolyse beobachtet wird. Es könnten also Alkohol, Aceton, Phenol in der Weise wirken, daß sie durch Erhöhung der Löslichkeit der Schwermetallsalze im Milieu das „Anfallen" der Blutkörperchen hintanhalten (s. ähnliche Ausführungen bei Bayer III.) und auf diese Weise die Hämolyse ermöglichen — also eigentlich Herabsetzung der Adsorption und Wirksamkeit, statt Erhöhung. Beim Cobragift sind die Verhältnisse noch viel verwickelter. Eins muß freilich zugegeben werden: über die Angriffspunkte verschiedener Hämolytika am roten Blutkörperchen wissen wir eigentlich zu wenig, als daß wir eine Klassifikation im Sinne der Bürgischen Hypothese vornehmen könnten. Nach den bis jetzt darüber möglichen Vermutungen scheint diese Hypothese bei der Hämolyse nicht zuzutreffen. Dieser Standpunkt ist ähnlich, wenn auch etwas weniger schroff ablehnend, demjenigen, den Führer und Greb in einer soeben erschienenen Arbeit über dasselbe Thema einnehmen. Geringe Unterschiede, die die Versuchsresultate dieser Autoren gegenüber den meinigen aufweisen, sind wahrscheinlich auf Differenzen in der Versuchsanordnung (ungewaschene Rinderblutkörperchen, kürzere Beobachtungszeit) zurückzuführen.

Ergibt sich somit als Ergebnis der synergetischen Versuche speziell in der Gruppe der lipoidlöslichen Hämolytika meist eine Addition von Sonderwirkungen der betreffenden Stoffe, so wird man mit dieser Feststellung natürlich noch nicht der Pflicht enthoben, eine Erklärung dieser Erscheinungen anzustreben. Die zu erklärende Grundtatsache ist die, daß durch das Zusammenwirken an sich scheinbar ganz unwirksamer Mengen zweier Stoffe eine Vollhämolyse zustande kommt. In Anlehnung an die betreffs der Salzförderung erörterten Verhältnisse kommen hier folgende drei Erklärungsmöglichkeiten in Betracht: 1) Es kann einer der Stoffe die Verteilungsverhältnisse des anderen durch Löslichkeitsbeeinflussung verändern und dadurch seine Aufnahme in die Blutkörperchen fördern. Für lipoidlösliche Narkotika (die meist auch hämolytisch wirksam sind) liegen derartige Angaben über gegenseitige Löslichkeitsbeeinflussung von Führer vor (Aether-Phenol, Alkohol-Phenol, Aether-Chloralhydrat, Alkohol-Chloralhydrat). 2) Der eine Stoff kann durch Einwirkung auf die Plasmahaut deren Permeabilität für den anderen steigern und dadurch eine erhöhte Aufnahme desselben ermöglichen. Die Beobachtungen von Bechhold und Ziegler ebenso wie diejenigen von Schuhmacher, Zott auf physikalisch-chemischem und kolloidchemischem Gebiet, diejenigen von Traube, Billard und Katzenellenbogen auf physiologischem sprechen für die Möglichkeit und für die Bedeutung einer derartigen Beeinflussung. 3) Es können die in das Blutkörperchen aufgenommenen Stoffe jeder für sich die kolloidale Struktur desselben so beeinflussen, daß die durch Addition dieser Partialwirkungen

entstandene Störung Hämolyse zur Folge hat. Die besprochenen drei Möglichkeiten müssen nun nicht so aufgefaßt werden, daß sie einander ausschließen, sondern sie können in manchen Fällen zu zweien oder dreien gleichzeitig zusammentreffen und an dem Endresultat mitwirken. Welche Rolle jedem der Faktoren im besonderen zukommt, muß erst durch eingehende physikalisch-chemische und kolloidchemische experimentelle Analyse ermittelt werden.

III. Versuche über den Mechanismus der verschiedenen Hämolysearten.

Die letztgenannten Untersuchungen führen uns hinüber zur Besprechung einer Reihe von Versuchen, in denen ich einen Einblick in den physikalisch-chemischen Mechanismus verschiedener Hämolysearten zu gewinnen trachtete. Während in den bisherigen Versuchen die Konzentration der Erythrocyten eine konstante war, nämlich ungefähr 1,3-proz. in den Proben, und nur die durch Variation der Konzentration der Hämolytika (oder ihrer Kombinationen) bedingten Aenderungen der Effekte in quantitativer und zeitlicher Hinsicht zur Beobachtung gelangten, wurde jetzt die Konzentration der Blutkörperchen variiert und daraus sich ergebende Differenzen analysiert.

Wenn wir den Mechanismus der Hämolyse untersuchen wollen, müssen wir dabei folgende Teilvorgänge berücksichtigen: 1) den Eintritt des Hämolytikums in das Blutkörperchen; 2) die physikalische oder chemische Reaktion desselben mit dem Erythrocyteninhalt; 3) den Austritt des Hämoglobins. Der Entwicklungsgang der Haemolyseforschung bringt es mit sich, daß wir alle drei Vorgänge als bedingt durch physikalisch-chemische oder chemische Faktoren betrachten — ob beim zweiten Vorgang die Vitalität der Erythrocyten resp. Absterbevorgänge mitspielen, eine Anschauung, die besonders von Kiss verfochten wird, erscheint mir ziemlich zweifelhaft und bleibt am besten vorläufig außer dem Bereich unserer Erwägungen.

Gruppeneinteilung der Hämolytika nach dem Modus der Giftaufnahme. Bei der Feststellung der minimalen lösenden Dosis können nun folgende Möglichkeiten vorliegen: A. Das Hämolytikum wird von den Blutkörperchen absorbiert und es gilt dann dafür der Verteilungssatz entsprechend dem Verhältnis der Löslichkeit des Hämolytikums im Milieu (isotonische NaCl-Lösung) zu derjenigen in der Blutköperchensubstanz. Hier sind nun zwei Fälle zu unterscheiden: 1) Die Löslichkeit in den Blutkörperchen differiert nicht beträchtlich von derjenigen im Milieu — dann wird die hämolytische Grenzdosis für verschiedene Blutkonzentrationen ungefähr dieselbe bleiben — es wird dabei vorausgesetzt, daß eine gewisse Konzentration des Hämolytikums im Blutkörperchen vorhanden sein muß, um auf chemischem oder physikalischem Wege Hämolyse zu bewirken. 2) Es kann die Verteilung stark zugunsten der Blutkörperchen erfolgen, dann wird die hämolytische Grenzdosis mit der wachsenden Blutkonzentration ansteigen, sie entspricht dann nämlich ungefähr der Konzentration des Hämolytikums in den Blutkörperchen. Ein und dieselbe Dosis des Hämolytikums verteilt sich dann einmal auf die kleine Blutmenge und löst sie, das andere Mal auf die große Menge und genügt dann, weil zu schwach konzentriert, nicht zu deren Auflösung. B. Das Hämolytikum kann von der Blutkörperchensubstanz adsorbiert

werden, dann ist der Fall für unsere Versuchsbedingungen meist identisch mit Fall A 2, weil in stark verdünnten Lösungen adsorbierbare Stoffe meist zum großen Teil dem Medium vom Adsorbens entzogen werden.

Meine Versuche bezogen sich auf die Repräsentanten der verschiedenen Gruppen der Hämolytika und es wurde einerseits eine einfache Blutkonzentration (die gewöhnlich gebrauchte oder zweimal schwächere) und eine 5- resp. 6- resp. 10-fache gebraucht und der zeitliche sowie quantitative Verlauf der Hämolyse in beiden verglichen. Es ergaben sich zwei scharf geschiedene Gruppen: 1) solche Hämolytika, wo die lösenden Grenzdosen für die verschiedenen Blutkonzentrationen gleich oder annähernd gleich sind: Alkohol, Aceton, Phenol, Anilin, Natriumglykocholat, Saponin, Pyridin, Chloralhydrat, Harnstoff, KOH, NH_3, Na_2CO_3, $CaCl_2$, $CaBr_2$, KCNS, NH_4CNS, K_2S, KCN, 2) solche, wo eine deutliche bis starke quantitative Differenz besteht: H_2SO_4, HCl, HCOOH, $CHCl_3$, $HgCl_2$ (auch von Arrhenius gefunden), $KMnO_4$, Na_2SiO_3, Natriumoleat, Tetanolysin.

Die Untersuchungen sind speziell bei Verwendung stark konzentrierter und sehr dünner Blutaufschwemmungen ziemlich erschwert, daher konnten keine noch weiter auseinandergehenden Konzentrationsdifferenzen der Blutaufschwemmung herangezogen werden. Bei Berücksichtigung dieser Versuchsschwierigkeiten war die Uebereinstimmung in manchen Fällen der ersten Gruppe eine ganz auffällige, nicht minder die ausgesprochenen Differenzen in der zweiten. Beim $HgCl_2$, $KMnO_4$, Natriumglykocholat betrug die hämolytische Grenzkonzentration für die 10-fache Blutmenge das 8-fache der für die einfache Blutmenge erforderlichen.

Wir werden aus unseren Versuchen, die in Tab. XXI teilweise wiedergegeben sind, den Schluß ziehen, daß bei der ersten Gruppe der Hämolytika die unter A 1 genannte Eventualität, bei der zweiten die unter A 2 oder B zutrifft. Das Verhalten der ersten Gruppe beansprucht auch deswegen Beachtung, weil in den letzten Jahren die Beobachtung gemacht wurde, daß das Komplement nicht nach seiner absoluten Menge, sondern nach seiner Konzentration wirkt und daher verschiedene Blutkonzentrationen gleiche (oder fast gleiche) Komplementkonzentrationen zu ihrer Auflösung erfordern (Scheller, Kiss). Da wir in der ersten Gruppe eine Reihe von chemisch ziemlich differenten Stoffen vor uns haben, die ein gleiches Verhalten aufweisen und bei denen es schwer fallen würde, eine Ferment- oder katalytische Wirkung anzunehmen, wird man diese Beobachtungen nicht mehr als Beweis für die Fermentnatur des Komplements heranziehen können (womit natürlich das Problem selbst nicht entschieden werden soll)[1].

Die Uebereinstimmung des Hämolyseverlaufes ist in beiden Reihen beim Alkohol, Aceton und Phenol eine geradezu überraschende zu nennen (bei den beiden letzteren ist eher noch ein Unterschied zu gunsten der stärkeren Blutkonzentration angedeutet), bei den anderen Stoffen ist der zeitliche Verlauf in der A-Reihe etwas verlangsamt und sind geringfügige Differenzen der Grenzwerte in beiden Reihen vorhanden, die aber weit entfernt sind von den Ausschlägen bei den Stoffen der zweiten Gruppe, die das 2—8-fache betragen. Um diese Uebereinstimmung deutlich hervortreten zu lassen, ist in diesen Versuchen, abweichend von dem sonst

1) Aehnliche Bedenken haben vor kurzem Liefmann und Andrejew geäußert.

befolgten Verdünnungsschema (mit 2 als Exponenten) eine Stufenreihe nahe aneinanderliegender Konzentrationen hergestellt worden.

Tabelle XXI.

Jedes Röhrchen enthält die unten angegebenen Mengen der Hämolytika sowie in Reihe A 0,4 ccm 15-proz., in Reihe B 0,1 ccm 6-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung in 1 ccm Gesamtvolumen. Die Resultate sind nach 2-, 7-, 30- und 90-stündigem Aufenthalt der Proben bei Zimmertemperatur verzeichnet.

Hämolytikum	Nach	Reihe A					Reihe B				
		0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2
Aethylalkohol	2 Std.	k	k	Spch	0	0	k	k	Spch	0	0
40-proz.	7 „	.	.	k	0	0	.	.	k	0	0
	30 „	.	.	.	w	0	.	.	.	w	0
	90 „	.	.	.	fk	Spch	.	.	.	st	Sp
Aceton	2 „	k	k	fk	0	0	k	fk	0	0	0
40-proz.	7 „	.	.	k	0	0	.	k	k	0	0
	30 „	.	.	.	k	0	.	.	.	k	0
	90 „	.	.	.	.	m	.	.	.	.	w
Phenol	2 „	k	k	0	0	0	k	fk	0	0	0
0,8-proz.	7 „	.	.	k	0	0	.	k	k	0	0
	30 „	.	.	.	k	0	.	.	.	k	0
	90 „	.	.	.	.	m	.	.	.	.	w
Pyridin	2 „	k	w	0	0	0	k	k	0	0	0
5-proz.	7 „	.	k	Sp	0	0	.	.	k	0	0
	30 „	.	.	k	Spch	0	.	.	.	w	0
	90 „	.	.	.	m	Sp	.	.	.	k	Spch
Chloralhydrat	2 „	k	m	0	0	0	k	k	k	0	0
ges. wäss.	7 „	.	k	m	0	0	.	.	.	st	0
Lösung $^1/_4$	30 „	.	.	k	k	0	.	.	.	k	k
	90 „	.	.	.	.	fk	.	.	.	.	.
Harnstoff	2 „	k	st	0	0	0	k	fk	Spch	0	0
ges. Lösung	7 „	.	fk	w	Sp	0	.	k	st	0	0
in isot. NaCl-	30 „	.	k	k	Sp	0	.	.	k	w	0
Lösung	90 „	.	.	.	w	Spch	.	.	.	k	k
KJ	2 „	Sp	Spch	0	0	0	k	k	k	st	0
ges. wäss.	7 „	k	k	k	fk	Spch	.	.	.	k	Spch
Lösung $^1/_4$	30 „	.	.	.	k	st	.	.	.	.	k
	90 „	.	.	.	.	st	.	.	.	.	.
$CaCl_2$	2 „	k	k	k	fk	w	k	k	k	fk	0
ges. wäss.	7 „	.	.	.	k	fk	.	.	.	k	w
Lösung	30 „	.	.	.	.	k	.	.	.	.	st
	90 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.	fk
Saponin	2 „	k	k	k	fk	w	k	k	k	fk	Sp
$^1/_{5000}$	7 „	.	.	.	fk	m	.	.	.	k	w
	30 „	.	.	.	k	m	.	.	.	.	m
	90 „	.	.	.	.	m	.	.	.	.	st
Natrium-	2 „	w	Sp	Spch	0	0	k	fk	0	0	0
glykocholat	7 „	m	w	Sp	0	0	.	k	Spch	0	0
$^1/_{1000}$	30 „	fk	st	w	Sp	0	.	.	k	Spch	0
	90 „	k	k	m	Sp	Sp	.	.	.	m	0

Versuche mit fraktioniertem Blutzusatz. Reversibilitätsfrage. Eine zweite Reihe von Versuchen entsprach in ihrer Anlage zum Teil dem, was man in der letzten Zeit in der Immunitätsforschung „Verbrauchsversuche" zu nennen pflegt, zum Teil aber Versuchen, wie sie in der physikalischen Chemie zur Feststellung der Reversibilität von Verteilungs- ev. Adsorptionsvorgängen üblich sind. Es wurde nämlich ein Hämolytikum einerseits an einer gewissen Blutmenge in absteigender Konzentrationsreihe ausgewertet, andererseits dieselbe Reihe zuerst mit einem Bruchteil dieser Menge beschickt und nach Ablauf einer gewissen Zeit (10—30 Minuten) der Rest der Blutmenge zugesetzt. Der Vergleich beider Reihen kann nun entweder übereinstimmende Grenzwerte ergeben oder es kann der Grenzwert bei fraktioniertem Blutzusatz größer sein als bei einmaligem. Im ersten Fall haben wir es mit einem vollständig reversiblen Prozesse zu tun — und wir wissen ja, daß an sich sowohl Absorptions- wie Adsorptionsvorgänge es sind, sofern nicht sekundäre Prozesse die Reversibilität beeinträchtigen. Als solche kommen in Betracht chemische Umsetzungen zwischen Absorbens und absorbiertem Körper resp. Adsorbens und adsorbiertem Körper, sodann bei Kolloiden Zustandsänderungen, wie sie als Fällungen, Hysteresis und andere bekannt sind. An diese Möglichkeiten werden wir zu denken haben, wenn bei unserer Versuchsanordnung die Reihe mit fraktionniertem Blutzusatz einen höheren Grenzwert ergibt als diejenige mit einmaligem. Gleiche oder fast gleiche Werte ergaben in meinen Versuchen Alkohol, Aceton, Phenol, KOH, Pyridin, Natriumglykocholat, KJO_4; einen kaum nennenswerten Unterschied fand ich beim Saponin, einen mäßigen bei $HgCl_2$ (auch von Dohi beobachtet), einen starken bei $AuCl_3$. Bei den letztgenannten Schwermetallsalzen handelt es sich wahrscheinlich um Ausfallen von Metallalbuminaten, die, wie ich im J. 1905 nachgewiesen habe (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. p. 544—545), zwar in einem Ueberschuß des betreffenden Eiweißkörpers löslich sind, aber nur beschränkt löslich, indem die Löslichkeit mit der Zeit progressiv abnimmt. Eine Sonderstellung nimmt in diesen Versuchen das $KMnO_4$ ein — hier ist bei fraktioniertem Zusatz (zuerst $^1/_4$ der Blutmenge, nach 30 Min. $^3/_4$) selbst das 128-fache Multiplum der bei einmaligem Blutzusatz lösenden Dosis nicht imstande, das nachträglich zugesetzte Blut aufzulösen. Man wird sich hier wohl den Sachverhalt so vorstellen, daß bereits sehr geringe Mengen $KMnO_4$ genügen, um durch Oxydation eines besonders leicht oxydablen Bestandteils der Erythrocyten (Lipoide? Eiweißkörper?) Hämolyse zu bewirken, sodann aber wird noch ein gewaltiger Ueberschuß von $KMnO_4$ zur Oxydation der restlichen Erythrocytenbestandteile verbraucht, so daß die späterhin zugefügte Blutmenge das Milieu bereits an $KMnO_4$ erschöpft vorfindet. Wir werden weiter bei sogenannten Absorptionsversuchen eine Bestätigung dieser Anschauung finden. Man könnte demnach die Vorgänge bei der $KMnO_4$-Hämolyse als chemisches Prototyp von „methämolytischen Reaktionen" betrachten, die von Bail für den Komplementverbrauch bei der Serumhämolyse verantwortlich gemacht werden.

In einigen weiteren Versuchen betraf die Fraktionierung nicht den Zusatz von Blutkörperchen-, sondern denjenigen der isotonischen NaCl-Lösung. Es wurden also gleiche Mengen von Blutkörperchen sowie vom Hämolytikum einmal in einem kleinem Volumen, das andere Mal in größerem zusammengebracht und sodann nach kurzer Zeit das Volumen

Tabelle XXII.

Jedes Röhrchen enthält in der Reihe A in 1 ccm Gesamtvolumen die unten angegebenen Mengen der Hämolytika sowie 0,4 ccm 15-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung. In der Reihe B werden dieselben Mengen der Hämolytika zunächst mit 0,1 ccm der Blutaufschwemmung versetzt (in einem Gesamtvolumen von 0,7 ccm), und nach 30 Minuten dauerndem Kontakt bei Zimmertemperatur werden weitere 0,3 ccm Blutaufschwemmung zugesetzt, so daß nunmehr die Zusammensetzung der entsprechenden Röhrchen in beiden Reihen identisch ist. Die Resultate sind nach 1, 8, 32 und 70 Stunden langem Aufenthalt der Proben bei Zimmertemperatur festgestellt.

Hämolytikum	Nach	Reihe A								Reihe B							
Aethylalkohol 40%	1 Std.	k	k	k	0	0	—	—	—	k	k	Spch	0	0	—	—	—
0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2	8 „	.	.	.	0	0	—	—	—	.	.	k	Sp	0	—	—	—
	32 „	.	.	.	st	0	—	—	—	.	.	.	st	Spch	—	—	—
	70 „	.	.	.	fk	0	—	—	—	.	.	.	fk	Sp	—	—	—
Aceton 40%	1 „	k	k	m	0	0	—	—	—	k	k	0	Spch	0	—	—	—
0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2	8 „	.	.	k	m	0	—	—	—	.	.	fk	w	0	—	—	—
	32 „	.	.	.	k	0	—	—	—	.	.	k	m	Sp	—	—	—
	70 „	.	.	.	.	Sp	—	—	—	.	.	.	m	Sp	—	—	—
Phenol 0,8%	1 „	k	0	0	0	0	—	—	—	k	Sp	Sp	0	0	—	—	—
0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2	8 „	.	k	k	0	0	—	—	—	.	k	k	Sp	0	—	—	—
	32 „	.	.	.	k	Spch	—	—	—	.	.	.	k	Spch	—	—	—
	70 „	.	.	.	.	w	—	—	—	.	.	.	.	w	—	—	—
$AuCl_3$ 0,25%	1 „	0	Sp	0	0	0	0	—	—	Spch	Sp	0	0	Spch	Spch	—	—
0,4 ,0,2, 0,1, 0,05,	8 „	0	w	k	k	k	k	—	—	Spch	w	0	0	Sp	Sp	—	—
0,025, 0,012	32 „	0	w	.	.	.	.	—	—	Spch	w	m	w	w	Sp	—	—
	70 „	0	w	.	.	.	.	—	—	Spch	w	m	m	w	Sp	—	—
KOH $^1/_{25}$ n.	1 „	k	k	k	fk	0	0	0	0	k	k	k	Sp	Spch	0	0	0
0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,25,	8 „	.	.	.	k	m	Sp	0	0	.	.	.	fk	Sp	Spch	0	0
0,2, 0,15, 0,1	32 „	.	.	.	.	k	k	m	Spch	.	.	.	k	k	m	w	Sp
	70 „	.	.	.	.	.	.	st	Sp	.	.	.	.	.	m	w	Sp
Natriumglykocholat	1 „	k	k	k	k	fk	w	Spch	0	k	k	fk	w	Sp	Sp	Sp	Sp
$^1/_{250}$	8 „	.	.	.	.	k	k	w	Sp	.	.	k	fk	m	w	w	w
0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,25,	32 „	.	.	.	.	.	.	k	w	.	.	.	k	k	fk	m	m
0,2, 0,15, 0,1,	70 „	.	.	.	.	.	.	.	m	.	.	.	.	.	k	k	m
$KMnO_4$	1 „	k	k	k	k	k	k	k	fk	w	w	w	w	w	w	w	w
$^1/_{320}$ 0,4, 0,2, 0,1	8 „	.	.	.	.	.	.	.	k	w	w	w	w	w	w	w	w
$^1/_{2560}$ 0,4, 0,2, 0,1	32 „	.	.	.	.	.	.	.	.	w	w	w	w	w	w	w	w
$^1/_{20480}$ 0,4, 0,2	70 „	.	.	.	.	.	.	.	.	w	w	w	w	w	w	w	w

der ersten Probe durch NaCl-Zusatz bis auf das Volumen der zweiten Probe ergänzt, so daß nunmehr zwei Proben von identischer Zusammensetzung, aber verschiedener Vorgeschichte vorlagen. Beim Formaldehyd sowie bei HCl und H_2SO_4 zeigten die ersten Proben stärkere und schnellere Hämolyse als die zweiten (s. Tab. XXIIa); es ist hier also trotz des gleichbleibenden relativen Verhältnisses der reagierenden Komponenten die Verdünnung der reagierenden Substanzen von Einfluß auf das Endresultat. Mit anderen Hämolyticis sollen solche Versuche noch weitergeführt werden, ebenso soll noch direkt der Einfluß der Verdünnung bei gleichbleibenden relativen Konzentrationen geprüft werden.

Tabelle XXIIa.

I. Es werden folgende Proben angestellt:

20-proz. Formaldehyd	0,05	0,05	0,10	0,10
Isoton. NaCl-Lösung	0,35	2,35	0,30	0,30
33-proz. Hammelblutaufschw.	0,10	0,10	0,10	0,10
Nach 5 Minuten bei Zimmertemperatur Zusatz von isot. NaCl	2,0	0	2,0	0
Resultat sofort	0	0	0	0
Resultat nach 15 Minuten	k	0	k	0
Resultat nach 20 Stunden	.	0	.	0

II.

1-prom. HCl in isot. NaCl-Lösung	0,2	0,2	0,2
Isoton. NaCl-Lösung	0	0	1,7
33-proz. Hammelblutaufschwemmung	0,1		
Nach 15 Minuten bei Zimmertemper… Zusatz von isot. NaCl-L…		0,1	0,1
Resultat nach 1 St… …ösung	0	1,7	0
Nach 5 Stun… …unde Zusatz	Sp	0	0
Resul… …uén bei Zimmertemperatur …von isot. NaCl-Lösung	1,7	0	0
…at nach 5 Stunden	st	w	Spch
Bindu… „ „ 20 „	k	st	Sp

lyticis „biol… …ngsversuche. Weiter wurden mit einer Reihe von Hämo-Reihe steig… …ogische Bindungsversuche“ in der Weise angestellt, daß eine setzt nach …gender Konzentrationen mit einer konstanten Blutmenge ver-Titer der … einer gewissen Zeit abzentrifugiert und, der hämolytische dieses W… abgehobenen Flüssigkeit bestimmt wird. Aus dem Vergleich Hämolyti… …ertes mit demjenigen der ursprünglich zugesetzten Menge des schätzung …kums wurde der von den Blutkörperchen gebundene Anteil mäßig, sp …sweise bestimmt. Die Genauigkeit derartiger Versuche ist recht der meis… …peziell bei stärkeren Konzentrationen ist die genaue Bestimmung ganzen … t relativ geringen Abnahme kaum durchführbar. Im großen und zuliegen, …scheinen beim $HgCl_2$, $K_2S_2O_7$, KJO_4 Adsorptionsvorgänge vorbundene … indem bei steigender Konzentration dieser Hämolytika der geAbnahme (relative) Bruchteil immer geringer wird. Beim Saponin war eine Interessan… durch Bindung, wenn überhaupt vorhanden, kaum festzustellen. zeigte sich… t war das Ergebnis derartiger Versuche beim $KMuO_4$. Hier imstande ist…, daß eine gegebene Menge der Erythrocytenaufschwemmung restlos zu b…, die 400-fache zu ihrer Hämolyse erforderliche $KMnO_4$-Menge …inder… Dieser Befund stimmt sehr gut zu dem vorhin mit-

geteilten Ergebnis des Versuches mit fraktioniertem Blutzusatz und bekräftigt die dort dafür gegebene Erklärung. Es wird sich wohl lohnen, derartige Bindungsversuche nach dem Muster von Herzog und Betzel bei Hefe, von Reichel bei Bakterien und von Morawitz bei Erythrocyten unter Heranziehung quantitativ-analytischer Methoden auszuführen, um auf diese Weise eine exakte Vorstellung vom Mechanismus der Stoffaufnahme und Giftwirkung zu erlangen.

Rettungsversuche. Außer diesen mehr direkten Versuchen wurde noch ein anderer indirekter Weg eingeschlagen, um die Art der Bindung der Blutgifte in den Blutkörperchen kennen zu lernen — nämlich die von Madsen seinerzeit in die Immunitätslehre eingeführte Methode der Rettungsversuche. Solche wurden zunächst mit vielen Stoffen derart ausgeführt, daß die mit dem Blutgift versetzte Blutaufschwemmung nach einer gewissen Kontaktzeit abzentrifugiert und der Bodensatz der Blutkörperchen in der gleichen Menge isotonischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt wurde. Natürlich muß man hier die Schnelligkeit der Hämolyse, die je nach der Natur des Blutgiftes und der gewählten Konzentration wechselt, berücksichtigen, indem bei schnell wirkenden Giften nur schwache Konzentrationen und kurze Kontaktzeiten gewählt werden müssen, um im Augenblick des Zentrifugierens noch intakte Blutkörperchen vor sich zu haben. Bei langsam wirkenden Giften (Schwermetallsalze, konzentrierte Neutralsalze) hat man natürlich weiteren Spielraum. Das Ergebnis derartiger Heilversuche kann nun ein positives (resp. teilweise positives) oder negatives sein. Haben wir es mit einem reversiblen Bindungs- (Absorptions- oder Adsorptions-)Vorgang zu tun, so werden die in isotonischer NaCl-Lösung suspendierten Erythrocyten infolge Aenderung des Gleichgewichtes einen Teil des gebundenen Giftes freigeben, sinkt dabei die Konzentration des Giftes in den Blutkörperchen unterhalb der zur Hämolyse erforderlichen Konzentration, so wird nur partielle Hämolyse eintreten oder sie kann auch ganz ausbleiben. Voraussetzung ist natürlich dabei, daß bis zum Abzentrifugieren die der Bindung folgenden chemischen oder physikalischen Einwirkungen auf die Blutkörperchensubstanz trotz anscheinender Intaktheit der Erythrocyten nicht so weit gediehen sind, daß eine Reversion der Bindung unmöglich wird. Wurde das Gift chemisch gebunden oder irreversibel adsorbiert, oder hat es bereits eine irreversible Schädigung der Blutzelle herbeigeführt (auch wenn es wieder abgespalten wird), so bleibt selbstverständlich der Rettungsversuch erfolglos. In meinen Versuchen gelang eine solche Rettung bei Verwendung von eben lösenden Konzentrationen von Aethylalkohol, Phenol, KOH, Anilin, Pyridin, Chloralhydrat, Natriumglykocholat, nicht dagegen bei Verwendung von Schwermetallsalzen, $KMnO_4$ — also dieselbe Gruppierung wie bei den Versuchen mit fraktioniertem Blutzusatz. Weitere zeitlich und quantitativ mehr variierte Versuche sind in Aussicht genommen, um den Verlauf der sekundären Einwirkungen auf die Blutkörperchensubstanz genauer zu analysieren. Bemerkt sei hier, daß betreffs der Sublimathämolyse derartige Versuche von Detre und Sellei, betreffs der Seifenhämolyse von Friedemann und Sachs bereits vorliegen.

Schutz- und Heilversuche. Eine zweite Art von Rettungsversuchen bezweckte die Ausschaltung des noch nicht gebundenen Giftes resp. die Loslösung des bereits verankerten von der vergifteten Blutzelle

nicht auf mechanischem, sondern auf chemischem Wege, es waren also nach der üblichen Bezeichnung „Heilversuche". Parallel damit wurden auch „Schutzversuche" ausgeführt, in denen das Blutgift zuerst mit seinem chemischen Antidot versetzt und erst nach Ablauf einer meist kurz bemessenen Zeit die Blutkörperchen hinzukamen. Als Antidote wurden vor allem solche Stoffe benutzt, die mit den betreffenden Blutgiften Fällungsreaktionen geben. Erwünscht sind dabei Körper, die nicht selber hämolytisch wirken, wenn natürlich auch zwei Hämolytika gegenseitig ihre Wirkungen aufheben können. Als einfachsten Fall wählen wir die Neutralisation der KOH-Hämolyse durch HCl, wie sie in Tab. XXIII dargestellt ist. Es ist daraus ersichtlich, daß durch die äquivalente Menge HCl die KOH-Hämolyse noch glatt hintangehalten wird, wenn das Antidot nach 5 Minuten langer Einwirkung der KOH zugesetzt wird, nicht ganz glatt nach 10 und 20 Minuten, unvollkommen nach 40 Minuten. Auch macht sich die Eigenart der verwendeten Blutkörperchenart bemerkbar, indem bei Kaninchenblut noch nach 20 Minuten ein fast voller Heilerfolg erzielt wird.

Tabelle XXIII.

Jedes Röhrchen enthält in einem Gesamtvolumen von 1 ccm 0,2 ccm 6,6-proz. gewaschener Blutaufschwemmung, und zwar in Reihe A menschlicher, in Reihe B vom Hammel, in Reihe C vom Kaninchen, außerdem 0,1 ccm $^1/_{40}$ normaler KOH, nach 5, 10, 20 resp. 40 Minuten erfolgt Zusatz von 0,1 ccm $^1/_{40}$ normaler HCl, in der Kontrollreihe von ebensoviel isotonischer NaCl-Lösung. Eine zweite Kontrollreihe enthält 0,2 ccm Blutaufschwemmung + 0,8 ccm isotonischer NaCl-Lösung. Die Resultate sind nach 1-stündigem Aufenthalt der Proben bei 42° C sowie nach weiteren 15 Stunden bei Zimmertemperatur verzeichnet.

Reihe	Nach	HCl-Zusatz nach 5 Min.	10 Min.	20 Min.	40 Min.	Kontrolle ohne HCl-Zusatz	Kontrolle ohne KOH u. HCl-Zusatz
A	1 Std.	Spch	Sp	Sp	w	fk	0
	15 „	Spch	Sp	Sp	m	k	0
B	1 „	0	Spch	0	0	Spch	0
	15 „	Spch	Sp	Sp	m	st	Spch
C	1 „	0	0	0	fk	k	0
	15 „	0	0	Spch	k	k	0

Dieses Verhalten, daß im Heilversuch der Effekt geringer ist als im Schutzversuch, und daß er mit der Dauer der Einwirkung des Blutgiftes vor der Entgiftung abnimmt, gilt für die überwiegende Mehrzahl der von mir untersuchten Fälle, die ich in folgender Zusammenstellung in der Weise anführe, daß an erster Stelle das Hämolytikum, an zweiter das Gegengift genannt wird:

$HgCl_2$	H_2S	$CuSO_4$	$Na_2S_2O_3$	$KMnO_4$	$Na_2S_2O_3$
„	$KAsO_2$	$SnCl_4$	Na_2CO_3	„	Na_2WO_4
$HgBr_2$	H_2S	$Pb(C_2H_3O_2)_4$	Na_2CO_3	„	Aceton
$AuCl_3$	Oxalsäure	„	Na_2HPO_4	„	Phenol
„	H_2S	$KMnO_4$	$KAsO_2$	„	Eulimen
Fe_2Cl_6	KOH	„	$(NH_4)_2S$	KJO_4	KCN
„	K_2HPO_4	„	H_2S	„	$KAsO_2$
„	$K_4Fe(CN)_6$	„	KCN	H_2SiO_3	NH_4Cl
Cl	$Na_2S_2O_3$	„	H_2SO_3	KOH	Brechweinstein
		Br	$Na_2S_2O_3$	J	$Na_2S_2O_3$

Eine gewisse Sonderstellung kommt in diesen Versuchen dem $KMnO_4$ insofern zu, als (mit einer Ausnahme) es selbst nach kurzer Kontaktzeit (1—5 Minuten) nicht gelingt, die Blutkörperchen mit irgendeinem der im Schutzversuch wirksamen Antidota zu retten. Das stimmt gut überein mit dem schnellen Verbrauch des $KMnO_4$, wie wir ihn oben bei fraktioniertem Blutzusatz kennen gelernt haben.

Eine andere Ausnahme bildet eine Reihe von Antidotis, bei denen (innerhalb gewisser zeitlicher Grenzen) Schutz- und Heilwirkung identisch verlaufen. Als solche Kombinationen seien genannt:

$HgCl_2$	$MgSO_4$	$AuCl_3$	$FeSO_4$
„	Formalin	$KMnO_4$	$FeSO_4$
„	$ZnCl_2$	Oxalsäure	$CaCl_2$

Wir sehen hier entweder solche Stoffe vor uns, die den Hämoglobinaustritt bei der Wasserhämolyse hemmen (Neutralsalze), also hier den Schlußakt der Vergiftung nicht zustande kommen lassen, oder aber Schwermetallsalze und Formaldehyd, die die Blutkörperchen fixieren und auf diese Weise die wohl zustande gekommene Vergiftung nicht in sichtbarer Form erscheinen lassen.

Paradoxes Phaenomen bei Heilversuchen. Endlich verdient noch eine besondere Besprechung eine merkwürdige Eigenart mancher Heilversuche, die darin besteht, daß im Heilversuch nicht nur die im Schutzversuch bewährte Neutralisation ganz versagt, sondern es tritt gegenüber der sich selbst überlassenen Kontrolle der vergifteten Blutkörperchen eine Beschleunigung und zugleich auch Verstärkung der Hämolyse ein. Als erster hat vor Jahren Sachs diese Eigentümlichkeit beim $HgCl_2$ beschrieben. Er fand, daß mit Sublimat fixierte Blutkörperchen bei Zusatz von Blutserum, KJ, $Na_2S_2O_3$ sofort in Lösung gehen. Ich habe diese Erscheinung nicht nur beim $HgCl_2$, sondern auch bei vielen anderen Schwermetallsalzen beobachten können, außerdem aber bei Natriumoleat, HJO_3, HJO_4. Hier die Kombinationen, in denen sie auftrat:

$HgCl_2$	$(NH_4)_2S$	$HgBr_2$	$(NH_4)_2S$	$SnCl_4$	NH_3
„	KCN	„	KCN	$Pb(C_2H_3O_2)_4$	NH_3
„	KC_2NS	$AuCl_3$	NH_3	$AgNO_3$	KOH
„	NH_4CNS	$CuSO_4$	KCN	„	Na_2CO_3
„	KJ	„	KCNS	„	NH_3
„	$Na_2S_2O_3$	„	$(NH_4)_2S$	„	NaCl
Natriumoleat	$CaCl_2$	HJO_3	$(NH_4)_2S$	„	KJ
„	$MgSO_4$	KJO_4	$(NH_4)_2S$	„	$(NH_4)_2S$

Wenn wir diese Liste überblicken, kommen wir zu der Ueberzeugung, daß das Zustandekommen der Erscheinung weder an bestimmte Hämolytika, noch auch an ganz bestimmte Antidota gebunden ist, indem sowohl die einen wie die anderen auch in den früher mitgeteilten Listen in anderen Kombinationen sich vorfinden. Freilich ist dazu zu bemerken, daß die Erscheinung meist an stärkeren Konzentrationen der betreffendeu Hämolytika zu beobachten ist, so daß möglicherweise manche der früher genannten Kombinationen bei Erweiterung der quantitativen Skala doch noch als hierher gehörig sich erweisen.

Ueber den Mechanismus des paradoxen Phaenomens und der Schwermetallsalzhämolyse überhaupt. Was den Mechanismus dieser beim ersten Anblick ganz frappanten Erscheinung betrifft, äußert Sachs (und nach ihm Kiss) die Meinung, daß das

normalerweise die Diffusion des Hb verhindernde Diskoplasma der Blut scheiben durch das gebundene $HgCl_2$ abgetötet wird, daß jedoch das Sublimat die Diffusion des Hb durch seine Koagulation oder vielleicht durch Abdichtung der Membran verhindert. Wird nun das $HgCl_2$ durch Serum, KJ oder $Na_2S_2O_3$ dem fixierten Blutkörperchen entzogen und die Hemmung dadurch aufgehoben, so erfolgt sofortige Hämolyse. Meine Versuche zur Ergründung dieser Frage führten zu einer ähnlichen Auffassung der Vorgänge, nur glaube ich im Sinne der früher geäußerten Bedenken, daß man statt vom „lebenden Zustand" und „Abtötung" des Diskoplasmas vielleicht besser vom chemisch resp. physikalisch-chemisch bedingten Gleichgewichtszustand der Blutkörperchen spricht, der die Intaktheit bedingt und dessen Störung unter geeigneten Bedingungen als Hämolyse sich äußern kann.

Die Klärung dieses Problems hängt aufs engste zusammen mit der ganzen Auffassung des $HgCl_2$ resp. Schwermetallsalzhämolyse. Wenn wir den zuerst von Detre und Sellei beschriebenen Vorgang der $HgCl_2$-Hämolyse ins Auge fassen, so finden wir zwei Eigentümlichkeiten, die allen Schwermetallsalzen in dieser Beziehung gemeinsam sind, das Ausbleiben der Hämolyse in stärkeren Konzentrationen, den langsamen Verlauf in schwächeren (s. Tab. XXIV, Reihe B). Es macht den Eindruck, daß irgendeine Hemmung da sein muß, die in starken Konzentrationen nicht überwunden wird, in den schwächeren aber die lange Inkubationszeit die Hämolyse bedingt. Ist das der Fall, so müßte es gelingen, durch Ausschaltung dieser Hemmung die Hämolyse zu beschleunigen resp. dort, wo sie gewöhnlich ausbleibt, also in den fixierenden Konzentrationen, in Erscheinung treten zu lassen. Tatsächlich gelingt dies, wenn man in $HgCl_2$-Lösungen suspendierte Erythrocyten nach kurzer Kontaktzeit (wir sahen in den Bindungsversuchen, daß die Bindung des $HgCl_2$ sehr schnell erfolgt), abzentrifugiert und in isotonischer NaCl-Lösung suspendiert (s. Tab. XXIV). Freilich ist die Hämolyse nicht momentan, wie in ähnlichen Versuchen beim Formaldehyd und den konzentrierten Neutralsalzlösungen, jedenfalls ist aber eine zweifellose Beschleunigung in höheren $HgCl_2$-Konzentrationen festzustellen, auch gibt es in diesem Versuch keine obere Hemmungszone, denn in den

Tabelle XXIV.

Jedes Röhrchen enthält in einem Gesamtvolumen von 1 ccm 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutkörperchen, außerdem die unten angegebenen Konzentrationen von $HgCl_2$. In der Reihe A werden die Blutkörperchen nach 3 Minuten dauerndem Kontakt bei Zimmertemperatur abzentrifugiert und in 0,95 ccm isotonischer NaCl-Lösung wieder aufgeschwemmt, in der Kontrollreihe B werden sie unberührt gelassen. Die Resultate sind nach 30 Minuten, 1, $2^1/_2$, 16 Stunden bei Zimmertemperatur verzeichnet. * = nach 5 Minuten gelöst.

Reihe	Nach	$HgCl_2$-Konzentration											
		$^1/_{250}$	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{4000}$	$^1/_{8000}$	$^1/_{16\,000}$	$^1/_{32\,000}$	$^1/_{64\,000}$	$^1/_{128\,000}$	$^1/_{256\,000}$	0
A	30 Min.	k*	k*	st	w	Spch	0	0	0	0	0	0	0
	1 Std.	.	.	k	st	w	w	0	0	0	0	0	0
	$2^1/_2$ „	.	.	.	k	fk	st	fk	k	k	k	fk	0
	16 „	.	.	.	.	k	k	k	.	.	.	k	0
B	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1 Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$2^1/_2$ „	0	0	Spch	st	st	fk	fk	k	k	k	k	0
	16 „	0	0	Spch	fk	k	k	k	.	.	.	.	0

fixierenden Konzentrationen ($^1/_{250}$—$^1/_{1000}$) vorbehandelte Erythrocyten werden binnen 5—10 Minuten gelöst. Dafür, daß die Beschleunigung hier nur mäßig ist, wäre wohl der Umstand verantwortlich zu machen, daß auf mechanischem Wege natürlich nur der nicht gebundene Ueberschuß des Giftes, der im Milieu zurückgeblieben ist, entfernt werden kann, eventuell, soweit die Bindung reversibel ist, derjenige Anteil des gebundenen Giftes, der noch von den Erythrocyten freigegeben wird. Daher sehen wir auch in den mittleren und schwachen Konzentrationen (von $^1/_{16\,000}$ abwärts) keine Beschleunigung der Hämolyse in der Reihe A. Der in den Erythrocyten fester gebundene Anteil des $HgCl_2$ wirkt in ihnen fort, und darauf ist wohl die Erscheinung zurückzuführen, daß in hohen Konzentrationen ($^1/_{250}$—$^1/_{1000}$) mit der Zeit die Bindung irreversibel wird und die abzentrifugierten Blutkörperchen nunmehr in der isotonischen NaCl-Lösung intakt bleiben.

Tabelle XXV.

11 Reihen von je 4 Röhrchen enthalten in jedem Röhrchen in 1 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung. Eine Reihe wird sich selbst überlassen, je zwei werden nach 5 und 15 Minuten, nach 1—4 und 22 Std. dauerndem Kontakt bei Zimmertemperatur abzentrifugiert und die Bodensätze der einen Reihe in 0,95 ccm isotonischer NaCl-Lösung, diejenigen der anderen in ebensoviel destilliertem H_2O aufgeschwemmt. Die Feststellung der Resultate erfolgte nach 26 Std. langem Aufenthalt der Proben bei Zimmertemperatur.

Proben zentrifugiert nach einem Kontakt von	Bodensatz aufgeschwemmt in isotonischer NaCl-Lösung				Bodensatz aufgeschwemmt in destilliertem H_2O			
	$HgCl_2$-Gehalt				$HgCl_2$-Gehalt			
	$^1/_{125}$	$^1/_{250}$	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{125}$	$^1/_{250}$	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$
5 Minuten	Sp	k	k	k	**Sp**	**Sp**	k	k
15 „	**0**	Sp	fk	k	**0**	**Spch**	*Sp*	*Sp*
1 Stunde	**0**	Sp	fk	k	**0**	**0**	*Sp*	*Sp*
4 Stunden	**0**	Spch	st	k	**0**	**0**	*Spch*	*Spch*
22 „	**0**	0	0	w	**0**	**0**	*Spch*	*Spch*
Nicht zentrifug. Kontrolle	**0**	**0**	0	Sp	—	—	—	—

Wir ersehen aus Tabelle XXV, die diese Verhältnisse illustriert, daß man im Bereich der fixierenden Konzentrationen (s. Kontrollreihe) durch Ausschaltung des freien oder leicht abspaltbaren Ueberschusses nach kurzer Zeit in den Verdünnungen $^1/_{250}$—$^1/_{1000}$ volle Hämolyse erreichen kann, daß aber, je länger der Kontakt gedauert hat, desto geringer der Ausschaltungserfolg wird, anscheinend infolge von Verfestigung der Bindung. In der Verdünnung $^1/_{125}$ ist dieselbe nach 5 Minuten bereits so weit gediehen, daß nur mehr Spur von Hämolyse eintritt. Der Vergleich der NaCl- mit der H_2O-Reihe ergibt die interessante Feststellung, daß wider Erwarten die Ausschaltung der Hämolysehemmung in isotonischem Milieu besser gelingt, als in dem an sich hämolytisch wirkenden. Damit in Uebereinstimmung befindet sich die dort ebenfalls hervortretende Tatsache, daß die $HgCl_2$-Agglutination der abzentrifugierten Erythrocyten im Wasser stärker ist, als in der NaCl-Lösung. Außerdem ist in der H_2O-Reihe ebenso wie in derjenigen mit NaCl die mit der Zeit fortschreitende Verfestigung der $HgCl_2$-Bindung sichtbar. Ueber die Ursache der Differenz der beiden Reihen sollen noch weitere Untersuchungen angestellt werden.

Sucht man den Ueberschuß von $HgCl_2$ resp. seinen von den Blutkörperchen abspaltbaren Anteil nicht auf mechanischem, sondern auf chemischem Wege zu entfernen und dadurch die durch ihn bedingte Hemmung der Hämolyse zu beheben, so sind die Resultate noch viel deutlicher. Es kommt dabei natürlich viel auf die quantitativen Verhältnisse zwischen der $HgCl_2$- und der Antidotmenge an — je mehr Antidot man zusetzt, desto größere Hg-Cl_2-Mengen können überwunden werden (s. Tabelle XXVI u. XXVII). Aus der Reihe mit 1-prom. KCN ist ersichtlich, daß mit der Zeit der Einwirkung des $HgCl_2$ die Wirkung des KCN abnimmt, aber nur in sehr geringem Grade, der chemischen Affinität gegenüber scheint die Verfestigung der Bindung nicht recht aufkommen zu können. Wird der freie Ueberschuß des $HgCl_2$ zuvor mechanisch entfernt, so wird die Wirkung des Antidots (KCN resp. KJ in Tabelle XXVII) beträchtlich verstärkt.

Doch nicht nur in $HgCl_2$-Konzentrationen, die fixierend wirken, sondern auch in den schwächeren, die hämolysieren, wird ein Einfluß der im Heilversuch nachträglich zugesetzten Antidota beobachtet und es wird selbst die Wirkung unterlösender $HgCl_2$-Konzentrationen verstärkt (s. Tabelle XXVIII).

Tabelle XXVI.

Jedes Röhrchen enthält in 0,9 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutkörperchen sowie die unten angegebenen Konzentrationen von $HgCl_2$. Nach 5—15—60 Minuten erfolgt Zusatz von 0,1 ccm 10- resp. 1-proz. KCN (in der Kontrollreihe nach 5 Minuten 0,1 ccm isotonischer NaCl-Lösung). Die Resultate sind nach 1—$2^1/_2$—22-stündigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur festgestellt. ** = Momentane Hämolyse. * = Fast momentane Hämolyse.

Zusatz	Nach	$HgCl_2$-Konzentration								
		$^1/_{125}$	$^1/_{250}$	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{4000}$	$^1/_{8000}$	$^1/_{16\,000}$	0
0,1 isot. NaCl-Lösung (Kontrolle)	1 Std.	**0**	**0**	0	Spch	0	0	0	0	0
	$2^1/_2$ „	0	0	0	m	st	fk	fk	st	0
	22 „	0	0	0	fkN	fk	k	k	k	0
0,1 KCN 10-proz. nach 5 Min.	1 Std.	k**	k**	k**	k**	k**	k**	k**	k**	fk
	$2^1/_2$ „	.	.	.	.	.	.	.	.	k
	22 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.
0,1 KCN 10-proz. nach 15 Min.	1 Std.	k**	k**	k**	k**	k**	k**	k**	k**	st
	$2^1/_2$ „	.	.	.	.	.	.	.	.	k
	22 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.
0,1 KCN 10-proz. nach 60 Min.	1 Std.	k**	k**	k**	k**	k**	k**	k**	k**	0
	$2^1/_2$ „	.	.	.	.	.	.	.	.	k
	22 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.
0,1 KCN 1-proz. nach 5 Min.	1 Std.	**0**	**0**	k*	k**	k**	k**	k**	k**	0
	$2^1/_2$ „	0	0	.	.	.	.	.	.	Spch
	22 „	0	0	.	.	.	.	.	.	Sp
0,1 KCN 1-proz. nach 15 Min.	1 Std.	**0**	**0**	k*	k**	k**	k**	k**	k**	0
	$2^1/_2$ „	0	0	.	.	.	.	.	.	0
	22 „	0	0	.	.	.	.	.	.	Sp
0,1 KCN 1-proz. nach 60 Min.	1 Std.	**0**	**0**	st	k**	k**	k**	k**	k**	0
	$2^1/_2$ „	0	0	fk	.	.	.	.	.	0
	22 „	0	0	fk	.	.	.	.	.	Sp

Tabelle XXVII.

Jedes Röhrchen enthält in 0,9 ccm Gesamtvolumen die unten angegebenen Konzentrationen von $HgCl_2$ sowie 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutkörperchen. Nach 5 Minuten langem Kontakt bei Zimmertemperatur wird in Reihe A I 0,1 ccm 10-proz. KCN, in Reihe A II 0,1 ccm 1-proz. KCN, in Reihe B I 0,1 ccm ges. wässeriger KJ-Lösung, in Reihe B II 0,1 ccm 10-fach verdünnter ges. KJ-Lösung zugesetzt. Die Röhrchen der Reihen A III und B III werden nach 5 Minuten abzentrifugiert und die Bodensätze in (0,85 ccm isotonischer NaCl-Lösung + 0,1 ccm 1-proz. KCN) resp. in (0,85 ccm isotonischer NaCl-Lösung + 0,1 ccm $^1/_{10}$ ges. KJ-Lösung) aufgeschwemmt. Die Resultate sind nach 1-stündigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur verzeichnet. * = Sofortige Hämolyse.

Reihe	$HgCl_2$-Konzentration						
	$^1/_{25}$	$^1/_{50}$	$^1/_{100}$	$^1/_{200}$	$^1/_{400}$	$^1/_{800}$	0
A I	0	Spch	k*	k*	k*	k*	fk
A II	0	0	0	0	k*	k*	0
A III	k*	k*	k*	k*	k*	k*	0
B I	0	k*	k*	k*	k*	k*	0
B II	0	0	0	0	k*	k*	0
B III	k*	k*	k*	k*	k*	k*	0

Abbluten fixierter Erythrocyten. An diese Versuche, in denen durch chemische Agentien der hemmende Ueberschuß von $HgCl_2$ aus den Blutkörperchen entfernt wurde, schließen sich solche, in denen die Affinität der Erythrocyten zum $HgCl_2$ zu diesem Zwecke benutzt wurde. Mit verschiedenen $HgCl_2$-Konzentrationen versetzte Blutkörperchen wurden nach verschiedener Kontaktdauer abzentrifugiert, zweimal mit isotonischer NaCl-Lösung gewaschen und dann verschiedene Mengen frischer Blutkörperchen zugesetzt. Es ergab sich, daß nicht nur die vorbehandelten, sondern auch die frisch zugesetzten in Lösung gingen. Ja noch mehr — wurden ursprünglich fixierende $HgCl_2$-Konzentrationen verwendet, die lange Zeit einwirkten, so wurden dennoch nicht nur die frisch zugesetzten, sondern auch die fixierten Blutkörperchen gelöst. Wir haben hier eine Erscheinung vor uns, die in manchen Beobachtungen der Immunitätslehre ihre Analoga findet. Morgenroth hat seinerzeit gefunden, daß mit hämolytischem Ambozeptor überladene Blutkörperchen den Ueberschuß an frisch zugesetzte „abbluten", ebenso fand Verf., daß dasselbe bei agglutininbeladenen Bakterien der Fall ist. Es wird offenbar von den vor behandelten und im $HgCl_2$-freien Milieu suspendierten Blutkörperchen infolge Störung des Gleichgewichtszustandes $HgCl_2$ abgeblutet, das von den frisch zugesetzten Erythrocyten abgefangen wird; dadurch wird das Milieu wieder $HgCl_2$-frei und $HgCl_2$ von den beladenen Blutkörperchen weiter abgegeben, und dieser Vorgang dauert so lange, als der Grad der Reversibilität der $HgCl_2$-Bindung es erlaubt. Es dürfte jedenfalls nicht uninteressant sein, darauf hinzuweisen, daß nach Hata bei der Inaktivierung von Fermenten durch $HgCl_2$ noch nach 1 Stunde durch KCN- resp. K_2S-Zusatz die Fermente reaktiviert werden können. Die Reversibilität scheint in diesem Falle (Speichel) sogar zeitlich nicht begrenzt zu sein.

Die Relativität der Fixation der Erythrocyten. Aus all diesen Versuchen, wo das $HgCl_2$ den Blutkörperchen entweder auf mechanischem oder auf chemischem Wege, oder endlich durch überschüssige Blutkörperchensubstanz entzogen wird, ist weiter ersicht-

Tabelle XXVIII.

Jedes Röhrchen enthält in 0,5 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutkörperchen sowie die unten angegebenen Konzentrationen von $HgCl_2$. Nach 10 Minuten langem Kontakt bei Zimmertemperatur werden überall 0,5 ccm $(NH_4)_2S$- resp. KCN-Lösung (in der Kontrolle ebensoviel isotonische NaCl-Lösung) zugesetzt und die Resultate nach 30 Minuten resp. 16 Stunden langem Aufenthalt der Proben bei Zimmertemperatur verzeichnet. * = Sofortige Hämolyse.

Zusatz nach 10 Minuten	Nach	$HgCl_2$-Konzentration						
		1/12 500	1/25 000	1/50 000	1/100 000	1/200 000	1/400 000	0
0,5 ccm isot. NaCl-Lösung	30 Min.	0	0	0	0	0	0	0
	16 Std.	k	k	k	k	w	0	0
0,5 ccm 2-proz. $(NH_4)_2S$	30 Min.	k*	fk	Sp	Spch	0	0	0
	16 Std.	.	k	k	k	k	k	fk
0,5 ccm 0,2-proz. $(NH_4)_2S$	30 Min.	k*	fk	Sp	Spch	0	0	0
	16 Std.	.	k	k	k	w	0	0
0,5 ccm 0,02-proz. $(NH_4)_2S$	30 Min.	fk	m	Spch	0	0	0	0
	16 Std.	k	k	k	k	w	0	0
0,5 ccm 1-proz. KCN	30 Min.	k*	k	k	fk	0	0	0
	16 Std.	.	.	.	k	k	k	k
0,5 ccm 0,1-proz. KCN	30 Min.	k	k	w	0	0	0	0
	16 Std.	.	.	k	k	k	Spch	0
0,5 ccm 0,01-proz. KCN	30 Min.	m	Spch	0	0	0	0	0
	16 Std.	k	k	k	k	k	Spch	0

lich, daß der Begriff der „Fixation" der Blutkörperchen nur ein relativer ist, daß es also nicht angeht, sich vorzustellen, ein fixiertes Blutkörperchen sei ein unter allen Umständen unveränderliches Gebilde geworden. Die Fixation ist vielmehr nur an besondere Milieus gebunden. Werden diese verändert, so kann auch die Stabilität des Zustandes verschwinden. Mit $HgCl_2$ fixierte Blutkörperchen halten sich unverändert in Wasser, schlechter in NaCl-Lösung, noch schlechter in Serum, KCN-, KJ-, $Na_2S_2O_3$-, $(NH_4)_2S$-, H_2S- oder KOH-Lösung.

Dieselbe Relativität der „Fixation" ist übrigens auch bei anderen Fixationsmitteln festzustellen und aus Tab. XXVIIIa, in der das Verhalten auf verschiedene Weise fixierter Blutkörperchen gegen diverse Hämolytika zusammengestellt ist, wird man leicht ersehen, daß jede Fixationsart ein individuelles Gepräge besitzt, indem sie die Blutkörperchen bald gegen dieses, bald gegen jenes Hämolytikum festigt. Ein allgemeines Fixationsmittel, das den Erythrocyten absolute Festigkeit gegen verschiedene Hämolytika verleihen würde, habe ich noch nicht gefunden. Eine interessante Beobachtung von Bordet zeigt übrigens am Beispiel von $HgCl_2$, daß solche Hämolytika, die sowohl fixierend als blutlösend wirken können, selbst in den hämolytischen Konzentrationen ihren fixierenden Einfluß auf die Stromata ausüben, indem dieselben unter Einwirkung von hypertonischen Salzlösungen nicht mehr zusammenschrumpfen, wie normale Stromata es zu tun pflegen. Diese Beobachtung läßt sich sehr gut in Einklang bringen mit der oben vertretenen

Tabelle XXVIIIa.

Die Blutkörperchen (zumeist vom Hammel, daneben auch Kaninchen-, Meerschweinchen-, Ziegen- und Menschenerythrocyten) wurden mit den betreffenden Fixationsmitteln versetzt und nach einer gewissen Zeit durch Zentrifugieren vom Ueberschuß des Mittels befreit und nochmals in isotonischer NaCl-Lösung gewaschen. Zu den Hämolyseversuchen kam, wie gewöhnlich, 0,1 ccm 13,2-praz. Aufschwemmung in 1 ccm Gesamtvolumen zur Verwendung. + = ungefähr normale Hämolysierbarkeit, ± herabgesetzte, — = Resistenz.

Blutkörperchen fixiert mit	Hämolyse durch																
	H_2O	H_2SO_4	KOH	Alkohol	Aceton	Phenol	Glyzerin	Saponin	Natrium-glykocholat	Chloral-hydrat	Harnstoff	Pyridin	Lecithin	Vibriolysin	$KMnO_4$	$HgCl_2$	Erhitzen auf 60° C
2-proz. Formaldehyd	—	+	—	—	—	—		—	—	±	—	—	—	—		—	—
1-prom. OsO_4	—	—	+			—							—	±[1])	—		
1-proz. $HgCl_2$	—	—	±			—							—	—	—		
70-proz. Alkohol	—	+	+	—	—	—	—	?	—	±	+	—					
Uranylacetat, ges.	—	—	+	—	—	—	—	?	—	±	+	—					
J (Lugolsche Fl.)	—	—	+	—	+	—	—	+	±	+	+	—					
Br (desgl.)	—	—	+	—	+	—	—	+	±	+	+	—					
ges. Pikrinsäure	—	—	+	—	—	—		—	—	+	+	—					
ges. $ZnSO_4$	—	+	+	—	—	—		+	+	±	+	—					
ges. $CuSO_4$	—	—	—	—	—	—		—	—	±	+	—					

Tabelle XXIX.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung sowie die unten angegebenen Mengen von $AuCl_3$ sowie von KOH- resp. NH_3-Lösung. In der A-Reihe wird zunächst Gift ($AuCl_3$) mit dem Gegengift (KOH-NH_3) in 0,9 ccm Volumen zusammengebracht und nach 10 Minuten langem Kontakt bei Zimmertemperatur 0,1 ccm Blutaufschwemmung zugesetzt (Präventivversuch); in der B-Reihe wird 0,1 ccm Blutaufschwemmung mit dem Gift in 0,5 ccm Volumen versetzt und nach 30 Minuten langem Kontakt bei Zimmertemperatur 0,5 ccm Gegengift zugesetzt (Heilversuch). Die Resultate sind nach 1, 2 und 15 Stunden bei Zimmertemperatur aufgenommen. * = sofortige Hämolyse.

Gegengift	Nach	Reihe A						Kontrolle ohne $AuCl_3$	Reihe B					
		$AuCl_3$ $^1/_{6400}$							$AuCl_3$ $^1/_{6400}$					
		0,4	0,2	0,1	0,05	0,025	0,012		0,4	0,2	0,1	0,05	0,025	0,012
0,5 ccm isot. NaCl-Lösung (Kontrolle)	1 Std.	0	Sp	w	0	0	0	0	k*	w	k*	Spch	0	0
	2 „	st	k	k	Spch	0	0	0	.	k	.	Spch	0	0
	15 „	k	.	.	k	w	0	0	.	.	.	k	Sp	0
0,5 ccm KOH $^1/_{300}$ n.	1 „	0	0	0	0	0	0	0	k*	fk*	fk*	Spch	0	0
	2 „	0	0	0	0	0	0	0	.	k	k	k	0	0
	15 „	Sp	Spch	Sp	0	0	0	0	.	.	.	.	k	Sp
0,5 ccm NH_3 2,5-proz.	1 „	k	k	k	k	k	k	k	k*	k*	k*	k*	k*	k*
	2 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	15 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
0,5 ccm NH_3 0,25-proz.	1 „	fk	m	Spch	0	0	0	0	k	k	k	k	Spch	0
	2 „	k	k	st	Spch	Spch	0	0	.	.	.	.	k	0
	15 „	.	.	k	k	w	Sp	0	.	.	.	.	.	Sp

1) Bei kurzer Einwirkung der OsO_4, nach längerer —.

Anschauung, daß $HgCl_2$ auch in hämolytischen Konzentrationen gleichzeitig hämolytisch und hämolysehemmend wirkt.

Die gleichen Gesetzmäßigkeiten, wie sie an der Hand der $HgCl_2$-Hämolyse gezeigt werden konnten, gelten auch für andere bereits oben

Tabelle XXX.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung sowie die unten angegebenen Mengen von Gift (Natriumoleat) und Gegengift ($CaCl_2$). Im Schutzversuch (Reihe A) wurde Gift und Gegengift in 0,9 ccm zusammengebracht und nach 10 Minuten dauerndem Kontakt bei Zimmertemperatur 0,1 ccm Blutaufschwemmung zugesetzt; im Heilversuch (Reihe B) wurden die Blutkörperchen mit dem Gift in 0,5 ccm zusammengebracht und nach einem Kontakt von 3 Minuten bei Zimmertemperatur 0,5 ccm Gegengift zugesetzt. Die Resultate sind nach $2^1/_2$ sowie 20 Stunden bei Zimmertemperatur verzeichnet. * = sofortige Hämolyse.

Gegengift	Nach	Reihe A				Kontrolle ohne Natr. ol.	Reihe B			
		Natriumoleat $^1/_{3000}$					Natriumoleat $^1/_{3000}$			
		0,4	0,2	0,1	0,05		0,4	0,2	0,1	0,05
Isoton. NaCl-Lösung	$2^1/_2$ Std.	k	k	k	0	0	k*	k	Sp	0
(Kontrolle)	20 „	.	.	.	Sp	0	.	.	k	k
0,5 ccm $CaCl_2$ ges. Lösung $^2/_5$ verdünnt	$2^1/_2$ „	0	0	0	0	0	k*	k*	k*	k
	20 „	st	st	st	st	st	.	.	.	.
0,5 ccm $CaCl_2$ ges. Lösung $^1/_{10}$ verdünnt	$2^1/_2$ „	0	0	0	0	0	k*	k*	k	st
	20 „	*Spch*	*0*	*0*	0	0	.	.	.	k
0,5 ccm $CaCl_2$ ges. Lösung $^1/_{50}$ verdünnt	$2^1/_2$ „	0	0	0	0	0	k*	k*	k	k
	20 „	fk	*0*	*0*	0	0	.	.	.	.

Tabelle XXXI.

Jedes Röhrchen enthält in 1 ccm Gesamtvolumen 0,1 ccm 13,2-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung, außerdem die unten angegebenen Mengen von Gift (HJO_3) und Gegengift [$(NH_4)_2S$]. Im Schutzversuch (Reihe A) wurden Gift und Gegengift in 0,9 ccm zusammengebracht und nach einem Kontakt von 10 Minuten bei Zimmertemperatur 0,1 ccm Blutaufschwemmung zugesetzt. Im Heilversuch (Reihe B) wurden die Blutkörperchen zuerst in 0,9 ccm mit dem Gift versetzt und nach einem Kontakt von 2 Minuten bei Zimmertemperatur kommt 0,1 ccm Gegengift dazu. Die Resultate sind nach einer und 20 Stunden bei Zimmertemperatur verzeichnet. * = sofortige Hämolyse.

Gegengift	Nach	Reihe A				Kontrolle ohne HJO_3	Reihe B			
		HJO_3 $^1/_{800}$					HJO_3 $^1/_{800}$			
		0,8	0,4	0,2	0,1		0,8	0,4	0,2	0,1
Isoton. NaCl-Lösung	1 Std.	k	fk	0	0	0	k	fk	0	0
(Kontrolle)	20 „	.	k	k	0	0	.	k	k	0
0,1 ccm $(NH_4)_2S$ 10 Proz.	1 „	0	0	0	0	0	k*	k*	k*	w
	20 „	Spch	Spch	Spch	Spch	Spch	.	.	.	fk
0,1 ccm $(NH_4)_2S$ 1 Proz.	1 „	0	0	0	0	0	k*	k*	k*	fk
	20 „	Sp	0	0	0	0	.	.	.	k
0,1 ccm $(NH_4)_2S$ 1 Prom.	1 „	0	0	0	0	0	k*	k*	k*	st
	20 „	k	Spch	0	0	0	.	.	.	fk

erwähnte Schwermetall- und manche andere Salze (s. Tab. XXIX, XXX, XXXI).

Ob auch hier (Seife HIO_3), ebenso wie bei den Schwermetallsalzen, die Ausschaltung eines hemmenden Ueberschusses an Blutgift im Spiel ist, erscheint mir zweifelhaft; für den Fall der Seife-$CaCl_2$-Kombination wäre vielleicht mit der Möglichkeit zu rechnen, daß im Schutzversuch die Seife vor dem Kontakt mit den Blutkörperchen in das unlösliche und deshalb unwirksame Calciumoleat umgewandelt wird, im Heilversuch aber das Präzipitat in den Blutkörperchen selbst, die die Oleinsäure gebunden haben, entsteht und durch Störung des darin herrschenden Gleichgewichts der Bestandteile Hämolyse bewirkt. Aehnliche Wirkungen bei der Seifenhämolyse konnten v. Dungern und Coca sowie F. Sachs durch Serum- resp. Alkalizusatz erzielen.

IV. Schlußbetrachtungen.

Ich kann die Mitteilung dieser noch nach mancher Richtung der Ergänzung bedürftigen Ergebnisse nicht abschließen, ohne wenigstens in ganz kurzen Worten meine Stellung zu den verschiedenen Theorien der Hämolyse anzudeuten. Wir sahen in den dargestellten Versuchen eine lange Reihe verschiedenartigster chemischer Agentien an uns vorbeiziehen, die alle imstande sind, unter entsprechenden Bedingungen Hämolyse zu bewirken. Die Verschiedenartigkeit dieser Stoffe läßt es von vornherein als zweifelhaft erscheinen, den Mechanismus all dieser Hämolysearten durch eine einzige Konzeption erklären zu wollen. Was aber tatsächlich dazu verhelfen könnte, diesen Mechanismus klarzulegen, wäre eine genauere Kenntnis des Aufbaues der roten Blutkörperchen, die auffallend genug — trotz der leichten Beschaffbarkeit dieser Gebilde in großen Massen immer noch aussteht. Die Mehrzahl der bekannt gewordenen Hämolysetheorien sind denn auch dementsprechend auf Hypothesen über die Struktur der Erythrocyten basiert. In Uebereinstimmung mit den von Kiss, M. H. Fischer, Froin, v. Liebermann sowie Ruszn yák entwickelten Anschauungen und auf Grund der Beobachtungen von Koeppe, Albrecht, Spiro und Schwalbe glaube ich, daß die Auffassung des roten Blutkörperchens als einer Lipoidblase mit hämoglobinhaltigem flüssigen Inhalt (Koeppe), ebenso wie diejenige, die ein schwammartiges Stroma mit hämoglobinhaltigen flüssigen Einschlüssen im Maschenwerk (Hamburger u. a.) annimmt, sich nicht gut mit den bekannten Tatsachen in Uebereinstimmung bringen läßt. Auch die Befunde von Nolf, Kiss, Höber sowie von mir über die Wirkung der Neutralsalze auf rote Blutkörperchen sprechen nicht gerade für die osmotische Theorie der Hämolyse. Am plausibelsten, weil mit allen bekannten Tatsachen wohlvereinbar und als Arbeitshypothese gut brauchbar, erscheint mir die Anschauung, wonach die Blutkörperchen aus einem Gemenge von Eiweiß- und Lipoidkolloiden bestehen, das Hämoglobin gebunden enthält. Ob diese Bindung eine chemische (aber lockere) ist, wie v. Liebermann sowie Froin behaupten, oder eine physikalische Adsorptionsbindung, wie M. H. Fischer will, läßt sich kaum entscheiden, wenngleich vieles für letztere Auffassung zu sprechen scheint. Im Sinne dieser Anschauung wird es verständlich, daß verschiedenartigste Agentien, die eine chemische oder auch nur physikalische Zustandsänderung der Körperchenkolloide bewirken, eine Lockerung der — physikalischen oder

chemischen — Bindung des Hämoglobins und dadurch Hämolyse bewirken können. Es werden dadurch die Probleme der Hämolyse ins Bereich der Kolloidchemie einbezogen, deren Bedeutung für die Biologie ja von Tag zu Tag im Wachsen begriffen ist. So führt z. B. Höber mit Recht den Einfluß der Neutralsalze auf die Hämolyse auf Zustandsänderungen der Kolloide der Plasmahaut zurück (ich würde lieber sagen, der ganzen Blutkörperchen), die durch die Neutralsalze bewirkt werden. Diese Auffassung wird uns auch die interessante neuerdings von Friedberger und Kumagai beschriebene Beobachtung verständlich erscheinen lassen, daß nämlich das unlösliche und chemisch indifferente Kaolin Hämolyse bewirken kann, indem es mit den Eiweißkolloiden der Blutkörperchen eine Adsorptionsverbindung eingeht. Ob die Zustandsänderung die Eiweiß- oder Lipoidkolloide betrifft, oder beide zugleich (was wahrscheinlich bei vielen Hämolyticis zutrifft), ob sie eine chemische und physikalische oder lediglich physikalische ist, wird natürlich für jedes Hämolytikum besonders entschieden werden müssen. In dieser Hinsicht können wir vielleicht manche Aufschlüsse erhoffen von analytischen Versuchen, in denen die Einwirkung diverser Hämolytika auf isolierte Bestandteile der Blutkörperchen untersucht wird, wie es Porges und Neubauer in ihren höchst interessanten Studien über das Lecithin und Cholestearin getan haben.

Auch eine andere Tatsachenreihe, der wir auch in unseren Erörterungen mehrfach begegnet sind, findet dann eine befriedigende Erklärung, nämlich der Zusammenhang zwischen Lipoidlöslichkeit und hämolytischem Vermögen vieler Stoffe. Diese Tatsache, ein Spezialfall der Lipoidtheorie von Overton und H. Meyer, die in neuester Zeit in Höber einen beredten Verfechter fand, läßt einerseits die Möglichkeit des Stofftransportes in die Blutzellen, andererseits ihre hämolytische Wirkung in Zusammenhang bringen. Sollte sich die von v. Liebermann vertretene Anschauung bewahrheiten, daß es das Lecithin ist, das die Bindung des Hämoglobins besorgt, so wäre damit ein neuer Beweis für die Wichtigkeit der Lipoidlöslichkeit der Hämolytika sowie der dadurch bedingten Zustandsänderungen der Lipoide geliefert. Bezüglich der von Traube aufgestellten und zu einer großen Theorie von Giftwirkungen letzthin ausgebauten Haftdrucktheorie möchte ich bemerken, daß sie mit der Kolloid- und Lipoidtheorie viele Berührungspunkte aufweist, und daß es auf Grund weiterer Forschungen vielleicht gelingen wird, alle drei Theorien auf dem Gebiete der Hämolyse zu einem harmonischen Ganzen zu vereinigen. Gerade in letzter Zeit hat diese Theorie zwei wichtige Erfolge zu verzeichnen. Zunächst hat Beyer nachgewiesen, daß die Neutralsalze in konzentrierter Lösung die Kapillaraktivität von gallensauren Salzen ebenso wie ihre hämolytische Wirksamkeit bedeutend steigern und ist geneigt, in der durch Neutralsalze bedingten Löslichkeitsbeeinflussung des Hämolytikums die Ursache für die Hämolysesteigerung zu suchen. Sodann aber hat Czapek in einer sehr bedeutungsvollen Untersuchungsreihe nachweisen können, daß eine große Reihe organischer Substanzen, die auch sonst als Narkotika und Hämolytika bekannt sind, übereinstimmenderweise in solcher Lösung Austritt von Gerbstoff aus Pflanzenzellen bewirken, deren Oberflächenspannung auf Wasser bezogen 0,68—0,69 beträgt. Czapek nimmt nun an, daß auf Grund des Gibbschen Theorems die Oberflächenspannung der Plasmahaut durch Ansammlung von kapillaraktiven Stoffen (Lipoiden?) in der Plasmahaut

reguliert wird, und daß kapillaraktive Giftstoffe, deren Lösungen eine niedrigere Oberflächenspannung aufweisen, jene Stoffe aus der Plasmahaut verdrängen und durch geänderte Permeabilität der Plasmahaut Austritt von Zellinhalt bewirken. Es ist offensichtlich, daß eine derartige Anschauungsweise leicht auch auf Erythrocyten sowie Bakterien übertragen werden könnte. Freilich sind dabei noch bei weitem nicht alle Wirkungsmöglichkeiten von Giftstoffen erschöpft, da nach Czapeks Untersuchungen manche Gifte wie Chloroform, Chloralhydrat, Acetonitril, Nitromethan, Aethylenglykol, Glyzerin sich dem von ihm gefundenen Gesetz nicht fügen und z. B. das schwach oberflächenaktive Saponin als wirksames Hämolytikum sich erweist. Hier ist natürlich an reversible oder irreversible Adsorptionen, Umsetzungen mit Eiweißkolloiden etc. zu denken.

Noch eine kurze Bemerkung. Ich habe mich oben gegen die Annahme einer Blutkörperchenmembran (im Sinne von Koeppe sowie von Hamburger) ausgesprochen, möchte jedoch nicht versäumen, mit Nachdruck zu betonen, daß ich damit die Existenz einer Membran (resp. Plasmahaut) im Sinne einer physikalisch-chemischen Grenzfläche durchaus nicht bestreiten will. Umgekehrt glaube ich, daß die Einführung des Membranproblems in dem letztgenannten Sinne (also nicht im morphologischen) für die Lehre von der Hämolyse (wie für die Biologie überhaupt) nur von Nutzen sein kann und will damit auf geistreiche Anregungen hinweisen, die die lichtvollen Ausführungen von Zangger sowie von Straub enthalten. Beobachtungen an Bakterien einerseits, am Gersten- und Weizenkorn andererseits (Brown, Schroeder) zeigen unter Heranziehung der an Blutkörperchen eruierten Tatsachen, daß hier Gesetzmäßigkeiten vorliegen, die selbst bei sehr weit voneinander entfernten Lebewesen viele und bedeutungsvolle Analogien aufweisen. Es wäre möglich, daß manche Fälle von Wirkungssteigerung im synergetischen Versuch gerade auf eine Aenderung der Permeabilität der Plasmahaut durch einen der Synergisten zurückzuführen sind, wofür anderwärts bereits Analogien vorliegen (Schumacher, Zott, Traube, Billard, Katzenellenbogen, Schröder).

Schlußsätze.

1) Neutralsalze bewirken in höheren Konzentrationen mehr oder minder vollständige Hämolyse. Diese Wirkung reiht sich anderen „Neutralsalzwirkungen“ an und ist als additive Wirkung der die Salze bildenden Anionen und Kationen zu betrachten. Je lipoidlöslicher ein Salz, desto stärker ist seine hämolytische Wirkung.

2) Werden Blutkörperchen aus einer konzentrierten Salzlösung in isotonisches Milieu gebracht, so kommt es zu einer momentanen Hämolyse. Diese Erscheinung ist entweder auf osmotische Störung oder wahrscheinlicher auf eine Ausschaltung des hämolysehemmenden Einflusses der Salze zurückzuführen.

3) Bei hydrolytisch gespaltenen Salzen kombiniert sich die OH- resp. H-Ionenwirkung mit der Salzwirkung.

4) Glyzerin, Natriumglyzerophosphat, verschiedene Zuckerarten wirken in höheren Konzentrationen ähnlich wie konzentrierte Neutralsalze.

5) Die Hämolyse durch H_2O, Alkohol, Phenol, Saponin, Natriumglykocholat, Pyridin, Paraldehyd, Aether, Chloroform, Anilin, Glyzerin, KOH und H_2SO_4, Neutralsalze wird durch erhöhte Temperatur beschleunigt und verstärkt. Es kommt dabei wahrscheinlich der begünstigende Einfluß auf verschiedene Teilfaktoren des hämolytischen Prozesses in Betracht.

6) Eine große Reihe von meist organischen lipoidlöslichen Hämolyticis erfährt durch Zusatz von Neutralsalzen eine Steigerung ihrer Wirksamkeit, die entweder auf eine Löslichkeitsbeeinflussung der betreffenden Hämolytika oder auf eine Summation ihrer Wirkung mit derjenigen der Salze oder auf beide Faktoren zurückgeführt werden kann. Ebenso, wie Neutralsalze, verhalten sich in dieser Hinsicht Glyzerin, Natriumglyzerophosphat, konzentrierte Zuckerlösungen.

7) Die hämolytische Wirkung von Säuren, sauren Salzen und sauren lipoidlöslichen Stoffen wird ebenso wie die Wasserhämolyse von Neutralsalzen gehemmt; die Hämolyse durch Alkalien wird von ihnen entweder nur sehr schwach gehemmt oder gefördert.

8) Säuren fördern, Alkalien und alkalische Salze hemmen die Wasserhämolyse.

9) Alkalien hemmen die Säurehämolyse, begünstigen dagegen diejenige durch saure lipoidlösliche Stoffe (Fettsäuren, Lecithin, Hg-Salze) sowie lipoidlösliche organische Hämolytika.

10) Cobragift verhält sich in synergetischen Versuchen ungefähr wie eine höhere Fettsäure; unter Mitwirkung unterlösender Dosen lipoidlöslicher Hämolytika löst es auch die sonst unempfindlichen Hammelblutkörperchen.

11) Tetanolysin und Vibriolysin werden von KOH, NaCl, Alkohol, Aceton, Harnstoff, Chininchlorhydrat gehemmt, von Aether und Phenol gefördert.

12) Durch Alkohol-, Aceton-, Phenol-Zusätze werden Schwermetallsalze in ihrer hämolytischen Wirkung stark gefördert; solche, die an sich nur fällend wirken, werden dadurch hämolytisch.

13) Die $KMnO_4$-Hämolyse wird durch verschiedene organische Zusätze sowie durch reduzierende Substanzen gehemmt.

14) Bei der synergetischen Hämolyseförderung durch Alkohol, Phenol, KOH und dergleichen genügt nicht die Vorbehandlung der Blutkörperchen mit diesen Stoffen, es ist vielmehr ihre Anwesenheit beim Hämolyseprozeß notwendig.

15) Alkohol, Aceton, Phenol, Anilin, Pyridin, Chloralhydrat, Harnstoff, Saponin, Natriumglykocholat, KOH, NH_3, Na_2CO_3, $CaCl_2$, $CaBr_2$, KCNS, NH_4CNS, K_2S, KCN wirken gegenüber verschiedenen Blutkonzentrationen nur nach ihrer Konzentration (ähnlich wie Komplement). Ihre Aufnahme erfolgt daher wohl durch Absorption, und zwar ohne besondere Bevorzugung der Blutkörperchen bei der Verteilung.

Tabelle XXXII.

Allgemeine Uebersicht über synergetische resp. antagonistische

Die Vertikalkolonnen entsprechen den Hämolyticis, die Horizontalkolonnen den ver-
gesprochene Förderung, ⊙ = schwache, ⨯ = mäßige,

Zusatz	Hämolytikum: H_2O	H_2SO_4	KOH	NH_3	Na_2CO_3	$N(CH_3)_3$	KJ	KCNS	NH_4CNS	KJO_3	$HgCl_2$	$Hg(CN)_2$	HgJ_2 . 2 KJ	$Hg(OCN)_2$	$HgSO_4$	$AuCl_3$	K_2PtCl_6	$KMnO_4$
Alkohol		0	++	+	+	+	++	++	++	++	++	+	+	+	0	+	++	⨯
Aceton		0		+	+	+	++	++	++	++	++	+			+	⨯	++	⨯
Aether		0	+	++	+	0	++	++	+	+	+	⊕	⊕	+	0	+	++	⨯
Phenol		0	?	+	⊕		++	++	+	0	+	+	++	+	+	++	+	⨯
KOH	⨯	⨯				+	++	⊕	0	++	+	+	+	++	+	?	+	0
Chinin-HCl		⨯	+	⊕	?		++	0	0	⨯	+	?	++		0	0	+	
Harnstoff		0	0	+	+						0				0			
KCN	⨯	⨯	0															⨯
$KAsO_2$	⨯	⨯	⊙	⨯	⨯						⨯							⨯
Glyzerin		0	0			⨯	0				⨯							
Natriumglycerophosphat		⨯	+								⨯							
Traubenzucker		0	?			⨯					⨯			⨯	⨯			⨯
ges. NaCl		⨯	⊙		⨯	⊙	0				⨯							⊙
ges. NaBr							0											
ges. LiCl																		
ges. $CaCl_2$		⨯	⊕	⊕	⨯	⊕												
ges. K_2HPO_4			⊙	⊕	⨯	⊙					⨯							⨯
ges. $MgSC_4$								0	0	⨯	⨯	⨯	⨯	⨯	⨯	⨯	⨯	

Zusatz	Hämolyticum: Triacetin	Acetamid	Formamid	Oleinsäure	Natriumoleat	Lecithin	Oxalsäure	Xylol	Phenol	Natriumphenylat	Phenylacetat	o-Chlorphenol	Thiophenol	Guajakol	Thymol	Natriumsalizylat	Salizylaldehyd	Vanillin	Harnstoff
Alkohol				+	++	+	+	+	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++
Aceton				+	++	+	+	++	++	++	++	++	+	++	+	++	++	++	++
Aether				+	+	+	0	++	+	+	0	+	+	+	⊕	+	+	+	+
Phenol				+	++	++	0	++		+				++					
KOH				++	+	++	⊙	++	0	+			0	+					++
Chinin-HCl				0	++	++	⊙	+	++	++	0	+	0	++		0	+	+	++
Harnstoff						+	0							0					+
KCN						+			0										++
$KAsO_2$						++			+										
Glyzerin									0						0				
Natriumglycerophosphat									⊕		⨯	⨯	⊙				0	0	
Traubenzucker									0						0				
ges. NaCl	⨯	⊙	⊙	⨯	⨯	⊙			++	⊙		+	⊕		+	+	0	0	⨯
ges. NaBr	?	⊙	⊙						++		0	+	⊕		+				
ges. LiCl	⨯					⊙			+						+				⨯
ges. $CaCl_2$	⨯				⨯	⨯			+				⊙		+				
ges. K_2HPO_4	⨯	⨯	⨯		⨯	0			?			+					0	0	
ges. $MgSO_4$	⨯	⨯		⨯	⨯		⨯	0	0	⨯	⨯	0		+			0	0	

Tabelle XXXII.

Virkungen in Kombinationen verschiedener Hämolytika.

chiedenen Zusätzen. 0 = keine Beeinflussung, ⊕ = schwache, + = mäßige, ++ = aus-
⊗ = ausgesprochene Hemmung.

K_2SiO_3	Alkohol: Methyl-	Alkohol: Aethyl-	Alkohol: Propyl-	Alkohol: Butyl-	Alkohol: Isobutyl-	Alkohol: Amyl-	Alkohol: Heptyl-	Alkohol: Oktyl-	Alkohol: Allyl-	Aceton	Aethyläther	Natriummonoglycerat	$CHCl_3$	Trichloräthylen	CCl_4	Chloralhydrat	Bromalhydrat	Ameisensäure	Buttersäure	Milchsäure	Acetin
+	⊗	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊙	?	0	⊕		0	×	×	×	⊗
	0	+	+	+	0	0	0	0	0	+	+	⊕	?	0	×	×	0	⊕	0	0	⊗
	⊕	+	⊕	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	×	×	+	×	×	×	⊗
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	
	+	+	⊕	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	
	+	+	+

Ergänzungen zu Tabelle XXXII.

An erster Stelle ist das Hämolytikum, an zweiter der Zusatz genannt. Die Bezeichnung der Resultate wie in der Tabelle.

$HgCl_2$-$(NH_4)_2S$	⊗	KOH-Cinchonin HCl	0	$SnCl_4$-Alkohol	+
„ H_2S	⊗	Chinin HCl- „	+	$MnCl_2$- „	+
„ H_2SO_4	⊕	Harnstoff- „	⊕	$Pb(C_2H_3O_2)_4$-Alkohol	++
„ Saponin	+	Saponin- „	+	Phosphorwolframsäure-Alkohol	+
„ $Na_2S_2O_3$	⊗	Natriumglykocholat-Cinchonin HCl	+	H_2CrO_4-Alkohol	+
„ $Na_2B_4O_7$	+	Pyridin-Cinchonin HCl	+	J- „	++
„ $ZnCl_2$	⊗	Chloralhydrat-Cinchonin HCl	+	Br- „	⊕
„ KCNS	+	Alkohol-Thebain HCl	⊕	$AgNO_3$- „	+
„ NH_4·CNS	+	Aceton- „	⊕	Gerbsäure- „	0
„ Natr. wolf.	⊙	Phenol- „	+	Pikrinsäure- „	+
„ HCOOH	0	KOH- „	×	K_2S- „	+
„ Pyridin	⊙	Saponin- „	0	BaS- „	+
„ menschl. Serum	⊙	Natriumglykocholat-Thebain HCl	+	Thioessigsäure-Alkohol	+
„ KJ	×	Pyridin-Thebain HCl	++	NH_4Br- „	+
$KMnO_4$-$FeSO_4$	⊗	Chloralhydrat-Thebain HCl	+	$CaBr_2$- „	0
„ $(NH_4)_2S$	⊗	Natriumoleat-H_2SO_4	+	KHS- „	+
„ Eulimen	×	Oleinsäure- „	+	HVO_3- „	0
„ Oxalsäure	×	Cobragift (Meerschw.-Blutkörp.)-H_2SO_4	⊗	K_2S-Aceton	+
„ Chinolin	×	$Hg(OCN)_2$- „	⊗	BaS „	+
„ Piperidin	×	$HgSO_4$- „	⊗	Thioessigsäure-Aceton	0
„ H_2SO_3	0	$K_2S_2O_7$-KCN	0	Orcin-ges. NaCl	+
„ Natr. wolf.	⊙	„ $KAsO_2$	⊗	„ ges. $CaCl_2$	+
„ $Na_2B_4O_7$	⊕	„ ges. NaCl	⊗	$CuSO_4$-$Na_2S_2O_3$	⊗
„ $Na_2S_2O_3$	⊗	KJO_4-KCN	×	„ KCNS	?
Eosin (belichtet)-Alkohol	+	„ $KAsO_2$	⊗	„ $(NH_4)_2S$	×
„ KOH	+	„ $(NH_4)_2S$	⊗	„ KCN	×
„ ges. NaCl	×	$AuCl_3$-NH_3	0	$SnCl_4$-KOH	⊗
„ ges. K_2HSO_4	+	„ $FeSO_4$	⊗	„ Na_2CO_3	⊗
Chinin HCl-Gerbsäure	×	„ $(NH_4)_2S$	⊗	„ NH_3	⊗
Pyridin- „	×	$AuCl_3$-NH_3	0	$Pb(C_2H_3O_2)_4$-KOH	⊗
Cinchonin HCl- „	×	„ $FeSO_4$	⊗	„ Na_2CO_3	⊗
Alkohol-Morphin HCl	0	„ $(NH_4)_2S$	⊗	„ NH_3	⊗
Aceton- „	0	„ Oxalsäure	⊙	„ Na_2HPO_4	⊗
Phenol- „	0	Oxalsäure-$CaCl_2$ ges.	⊗	„ $KAsO_2$	?
KOH- „	⊙	„ Phenol	+	„ KJ	0
Saponin- „	0	HJO_3-$(NH_4)_2S$	⊗	$AgNO_3$-KOH	0
Natriumglykocholat-Morphin HCl	+	Fe_2Cl_6-$K_4Fe(CN)_6$	×	„ Na_2CO_3	0
Pyridin-Morphin HCl	0	„ K_2HSO_4	×	„ NH_3	0
Chloralhydrat-Morphin HCl	0	ges. LiCl-Ameisensäure	×	„ Na_2HPO_4	0
Alkohol-Berberin HCl	0	ges. $CaCl_2$- „	×	„ KJ	⊗
Aceton- „	0	„ „ H_2PO_4	×	„ $(NH_4)_2S$	⊗
Phenol- „	0	Antiformin-$Na_2S_2O_3$	×	J-$Na_2S_2O_3$	×
KOH- „	0	$FeCl_3$-Alkohol	+	Br- „	×
Saponin- „	0	Fe_2Cl_6- „	++	K_2SiO_3-NH_4Cl	⊗
Natriumglykocholat-Berberin HCl	0	$FeSO_4$- „	++	H_3BO_3-KCN	⊗
Pyridin-Berberin HCl	0	$CuSO_4$- „	+	KBO_2-Alkohol	++
Chloralhydrat-Berberin HCl	0	$CuCl_2$- „	++	„ Aceton	++
Alkohol-Cinchonin HCl	+	$CdCl_2$- „	+	HN_3-Alkohol	0
Aceton- „	+	$ZnCl_2$- „	⊕	„ Aceton	0
Aether- „	+	OsO_4 „	++	Naphthol (α, β)-ges. NaCl	+
Phenol- „	+	Uranylacetat-Alkohol	+	„ ges. $CaCl_2$	+
		Ammon. molybd.-Alkohol	++	Paraldehyd-ges. NaCl	×
		Natr. wolfr.-Alkohol	++	„ ges. $CaCl_2$	×

16) Bei H_2SO_4, HCOOH, $HgCl_2$, $KMnO_4$, Na_2SiO_3, $CHCl_3$ bedarf man für Lösung stärkerer Blutkonzentrationen auch stärkerer Konzentrationen des betreffenden Hämolytikums. Hier erfolgt die Verteilung zugunsten der Blutkörperchen (durch Absorption oder Adsorption).

17) Die quantitativen Verhältnisse bei fraktioniertem Blutzusatz sind für Alkohol, Aceton, Phenol, KOH, Pyridin, Natriumglykocholat identisch, beim Saponin fast identisch mit denjenigen bei einmaligem Blutzusatz; bei $HgCl_2$, $AuCl_3$ und besonders bei $KMnO_4$ sind im ersten Fall stärkere Konzentrationen zur Lösung erforderlich als im zweiten. Bei der ersten Gruppe ist die Bindung anscheinend reversibel, bei der zweiten wird die Reversibilität durch sekundäre Vorgänge („methämolytische Reaktionen") beeinträchtigt.

18) Biologische Bindungsversuche ergaben wenig brauchbare Resultate; nur beim $KMnO_4$ wurden selbst 400-fache Multipla der lösenden Dosis restlos aufgebraucht.

19) Mit eben lösenden Konzentrationen von Alkohol, Phenol, KOH, Anilin, Pyridin, Chloralhydrat, Natriumglykocholat versetzte Blutkörperchen können vor Eintritt der Hämolyse abzentrifugiert und in isotonischem Milieu aufgeschwemmt vor der Hämolyse bewahrt werden, nicht dagegen nach Einwirkung von $HgCl_2$ oder $KMnO_4$. Das erste Verhalten spricht für reversible Bindung, das zweite für irreversible Bindung oder Schädigung.

20) In Heilversuchen erweisen sich antagonistische Stoffe meist weniger wirksam als in Schutzversuchen, und nimmt die Wirksamkeit mit der Dauer der Einwirkung des Blutgiftes ab. Beim $KMnO_4$ ist auch nach kürzester Kontaktzeit keine Heilung mehr zu erzielen. Nur eiweißfällende Stoffe oder Neutralsalze erweisen sich in manchen Kombinationen im Heilversuch ebenso wirksam wie im Schutzversuch.

21) In manchen Kombinationen (speziell bei der Schwermetallsalzhämolyse) erweisen sich im Schutzversuch wirksame Gegengifte hämolysebeschleunigend, und -steigernd im Heilversuch. Bei den Schwermetallsalzen ist diese Erscheinung auf chemische Ausschaltung eines hemmenden extra- oder intraglobulären Ueberschusses an Salz zurückzuführen. Diese Ausschaltung kann auch auf mechanischem Wege erfolgen oder durch die Affinität frisch zugesetzter Blutkörperchen.

22) Die chemische Fixation von Blutkörperchen ist nur relativ, d. h. für jedes Fixationsmittel nur in bestimmten Milieus beständig.

23) Hämolyse ist auf physikalisch-chemische (manchmal chemisch bedingte) Zustandsänderungen der Blutkörperchenkolloide (Eiweiß und Lipoide) zurückzuführen und beruht auf einer Lockerung der chemischen oder wahrscheinlicher Adsorptionsbindung des Hämoglobins an diese Kolloide.

Zum Schlusse sei noch bemerkt, daß ich in Gemeinschaft mit Frau M. Okolska in Desinfektionsversuchen an Bakterien mit den in Hämolyseversuchen angewandten Substanzen sehr ähnliche Gesetzmäßigkeiten finden konnte, worüber unsere demnächst erscheinende Arbeit Aufschluß geben soll.

Literatur.

Albrecht, E., zit. nach Rusznyák.
Arrhenius, S., Immunochemie.
—, Meddel. från Vetenskapsakad. Nobelinstit. Bd. 1. No. 10, 13.
Bayer, Biochem. Zeitschr. Bd. 5. p. 368—380; Bd. 9. p. 58—71; Bd. 13. p. 234—242.
Bang, J., Biochem. Zeitschr. Bd. 16. p. 255.
Bechhold, H., Die Kolloide in Biologie u. Medizin. Dresden 1912.
Bechhold u. Ziegler, zit. bei Bechhold.
Bordet, J., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 12. p. 616—617.
Brown, A. J., zit. nach Schroeder.
Bürgi, E., Dtsche med. Wochenschr. 1910. No. 1, 2.
—, Berlin. klin. Wochenschr. 1911. No. 20.
—, Verh. d. XVIII. Dtschen Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden 1911. p. 305—313.
—, Arch. f. exper. Pathol. u. Ther. Bd. VIII. p. 523—535.
Cernovodeanu, P. et Henri, V., Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. 58. p. 28, 35, 222, 455, 507, 855.
Czapek, F., Ueber eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen. Jena (G. Fischer) 1911.
Dohi, Sh., Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther. Bd. 5. p. 626—645.
v. Dungern, E. u. Coca, F., Berlin. klin. Wochenschr. 1908. p. 351.
Eisenberg, Ph., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 41. p. 240.
—, Biochem. Zeitschr. Bd. 45. p. 303—327.
v. Eisler, M., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 2. p. 159—203.
v. Fenyvessy, B., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 2. p. 443—452.
Fischer, M. H., Das Oedem. Dresden (Steinkopff) 1910. p. 170—179.
Fluri, M., zit. bei Bechhold, p. 225.
Fraenkel, E., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 10. p. 388—419.
Friedberger, E. u. Kumagai, T., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 13. p. 127—150.
Friedemann, M. u. Sachs, F., Biochem. Zeitschr. Bd. 12. p. 268—272.
Froin, G., Hématolyse et hématogénèse. Paris (Steinheil) 1910.
Frei, W., Zur Theorie der Hämolyse. Berlin (Schötz) 1907.
Fühner, H., Ber. d. Dtschen-chem. Ges. Bd. 42. p. 887—889.
—, München. med. Wochenschr. 1911. No. 4.
—, Zeitschr. f. Biol. Bd. 57. p. 465—494.
—, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 69. p. 29—44.
Fühner, H. u. Greb, W., Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 69. p. 348—364.
Fühner, H. u. Neubauer, Arch. f. exper. Phathol. u. Pharmakol. Bd. 56. p. 333—345.
Goebel, zit. nach Sachs.
Goldschmidt, R. u. Pribram, E., Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther. Bd. 6.
Gros, O., Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 57. p. 64, 78, 415—422; Bd. 62. p. 1—38.
—, München. med. Wochenschr. 1910. p. 2042—2044.
—, Biochem. Zeitschr. Bd. 29. p. 350—367.
Gryns, zit. nach Hamburger.
Hata, S., Biochem. Zeitschr. Bd. 17.
Henri, V. et Lévy, J., Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. 61. p. 124.
Herzog, R. O. u. Betzel, R., Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 67. p. 310—313; Bd. 74. p. 221—241.
Höber, R., Biochem. Zeitschr. Bd. 14. p. 209—216.
—, Pflügers Arch. Bd. 134. p. 311—336.
—, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 3. Aufl. Leipzig (Engelmann) 1911.
Izar, G., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 2. p. 482—495.
Kiss, J., Das periodische System der Elemente und die Giftwirkung. Wien (Hölder) 1909.

Kiss, J., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 3. p. 558.
Kleemann, Ueber die Resistenz der roten Blutkörperchen gegenüber Ammoniak und Essigsäure. [Inaug.-Diss.] Berlin (Springer) 1912.
Koeppe, H., Pflügers Arch. Bd. 99. p. 33; Bd. 107. p. 86—93.
Kochmann, Dtsche med. Wochenschr. 1912. p. 1589.
Küper, W., Ueber Hämolyse durch Alkohol. [Inaug.-Diss.] Gießen 1905.
Laewen, München. med. Wochenschr. 1910. p. 2044—2045.
Lévy, J., Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. 61. p. 39—42.
v. Liebermann, L., Arch. f. Hyg. Bd. 62. p. 277—342.
Liefmann u. Cohn, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 8. p. 66—69.
Loeb, J., zit. bei Bechhold, p. 224.
Madsen, Th., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 32. p. 239.
Madelung, zit. nach Bürgi.
Matthes, München. med. Wochenschr. 1902. No. 1.
Meyerstein, W., Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 60. p. 385—389; Bd. 62. p. 258—265.
Meurer, R., zit. bei Bechhold, p. 225.
Miculeich, zit. nach Höber.
Nolf, P., Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 14. p. 656—685.
Port, zit. nach Höber.
v. Prowazek, zit. nach Traube.
Pribram, E., Pflügers Arch. Bd. 137. p. 350—358.
—, Kolloidchem. Beihefte. Bd. 2. Heft 1—2.
Ritz, H., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 7. p. 170—184.
Rondoni, P., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 9. p. 193—206.
Rothmund, V., Löslichkeit und Löslichkeitsbeeinflussung. Leipzig (Barth) 1907.
Ruffer, A. and Crendiropoulo, Lancet. 1907. Jan.
Rusznyák, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 8. p. 421—425.
Sacharoff, G. u. Sachs, H., München. med. Wochenschr. 1905. No. 7.
Sachs, F., Biochem. Zeitschr. Bd. 12. p. 278—289.
Sachs, H., München. med. Wochenschr. 1902. p. 189—190.
—, Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 35.
Scheller, R., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 61. p. 120.
Schultz, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 12. p. 353—379.
Schumacher, zit. bei Czapek, p. 84.
Schröder, H., Flora. Bd. 102. p. 186—208.
Schwalbe, zit. nach Rusznyák.
Spiro, zit. nach Rusznyák.
Stadler, E. u. Kleemann, H., Biochem. Zeitschr. Bd. 36. p. 301—320, 321—334.
Straub, W., Wien. klin. Wochenschr. 1912. p. 1509—1510.
Teruuchi, Y., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 1.
Traube, J., Chemiker-Ztg. 1910. p. 217.
—, Biochem. Zeitschr. Bd. 24. p. 323—340, 341—345.
—, Pflügers Arch. Bd. 140. p. 109—134.
—, Ber. d. Dtschen pharmaz. Ges. 1911. p. 116—122.
—, Ber. d. Dtschen chem. Ges. Bd. 44. p. 556—560.
—, München. med. Wochenschr. 1912. No. 19.
—, Dtsche med. Wochenschr. 1912. No. 31.
—, Kolloidchem. Beihefte. Bd. 3. p. 237—336.
Ungermann u. Kandiba, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 40. p. 24—77.
Walbum, L. E., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 7. p. 544—577.
Zangger, Ergebn. d. Physiol. Bd. 7. p. 99.
—, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 1. p. 193—217.
Zott, zit. bei Czapek, p. 84.

Nachdruck verboten.

Sternförmiger Plattenteiler.

[Aus dem Bakteriologischen Institut von Dr. Piorkowski, Berlin.]

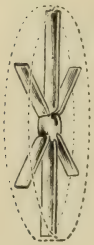
Von Dr. **Arnold Hahn.**

Mit 1 Textfigur.

Die Gesamtfläche einer Agarplatte wird nur in wenigen Fällen vollkommen ausgenützt. Bei der Mehrzahl der Versuche begnügt man sich mit einem Wachstum, das bloß ein Viertel, ja sogar nur ein Sechstel der Platte ausfüllt. Einer weiteren Ausnützung der Platte steht die Möglichkeit des Ineinanderwachsens der Kulturen im Wege. Daher kommt es, daß man in vollkommen unrationeller Weise fünf Sechstel des aufgewendeten Agarmaterials unausgenützt vernichtet.

Diesen Uebelstand beseitigt nebenstehend skizzierter Plattenteiler in einfachster Weise:

Der aus dünnem, leichtem Glas hergestellte Stern wird in die Agarmasse, so lange sie noch flüssig ist, eingestellt. Beim Gelatinieren der Masse wird er von ihr umklammert und selbst beim Umdrehen der Platte festgehalten. Da die Kanten des Sternes über den Agar emporragen, wird die Platte dadurch sofort in sechs überall von Glaswänden umgebene Sextanten geteilt, die praktisch ebensoviele, voneinander unabhängige kleine Versuchsplatten darstellen. Ein Bakterienwachstum über die Glaswände hinweg findet natürlich nicht statt. Man impft zweckmäßig in der Nähe des Zentrums, von wo aus dann das Wachstum gegen die breiteren Flächen des Sextanten ausstrahlt.



Vorteile:

Ersparnis an

Agar: Die Menge, die sonst für einen Versuch Verwendung findet, reicht für 6 Versuche aus;

Zeit: In derselben Zeit, in der sonst eine Platte gegossen wird, gießt man praktisch **6**;

Arbeit: Siehe „Zeit“;

Raum: An Stelle von **6** Platten steht im Brutschrank nur eine.

Bequemlichkeit:

1) Mit freiem Auge kann man sofort eine größere Versuchsreihe überblicken;
2) unter dem Mikroskop kann man ohne Plattenwechsel durch einfaches Verschieben einer einzigen Platte 6 Versuche betrachten, wodurch die Bilder besser im Gedächtnis haften und schärfer verglichen werden können.

Der sternförmige Plattenteiler wird von der Firma Franz Hugershoff, Leipzig, Karolinenstr. 13, hergestellt.

Nachdruck verboten.

Das bakteriologische Staatslaboratorium in Luxemburg.

Von Dr. **A. Praum**, Direktor.

Mit 18 Figuren.

Das bakteriologische Staatslaboratorium ist das eigentliche hygienische Institut des Großherzogtums. Es ist berufen, an der Medizinalverwaltung teilzunehmen und für die öffentlichen Verwaltungen, gelegentlich auch für Private hygienische, bakteriologische, pathologische und chemische Untersuchungen vorzunehmen. Lehr- und Forschungszwecken dient es nur ausnahmsweise.

Gegründet 1896, war es vorerst in provisorischen Räumen untergebracht. Im Jahre 1909 wurde ihm ein eigener Neubau zugewiesen. Da dieser sich jetzt, nach vierjähriger Benutzung, als zweckentsprechend erwiesen hat, lohnt es sich, ihn hier näher zu beschreiben.

Das Hauptgebäude bedeckt eine Fläche von 510 qm. Es erhebt sich auf einer mäßigen Anhöhe in der Nähe des Hauptbahnhofes, ist in den Formen der Hochrenaissance ausgeführt und nach Südosten orientiert.

Die Baukosten, einschließlich Terrasse und Kanalisation, beliefen sich auf rund 156000 M. Für die innere Einrichtung — Heizung, Gas, Wasser, Elektrizität, sanitäre Anlagen, Spezialmobiliar — wurden 75000 M. verausgabt.

Das Gebäude ist ausgeführt in Luxemburger Sandstein, der zum großen Teil aus einem in der Nähe gelegenen Steinbruch gewonnen wurde. Die Hauptmauern sind 0,70 m dick und stehen auf Fels.

Hauptgewicht wurde auf die möglichst günstige Luft- und Lichtverteilung gelegt und durch Anlage breiter Korridore und Treppen erreicht.

Für die innere Anordnung galt als Regel, Arbeits- und Bureauräume möglichst getrennt zu halten. Daher wurde das Grund- und Erdgeschoß der praktischen Betätigung, das Stockwerk Lehr- und Verwaltungszwecken ausschließlich zugeteilt.

Die Decken sind feuer- und schallsicher nach dem System Holtzer ausgeführt.

Als Fußbodenbelag kamen für alle Arbeitsräume Tonplatten von Marseille (carreaux ferrugineux) zur Verwendung. Diese Platten zeichnen sich durch ihre geringe Wärmeleitung aus, wodurch das so lästige Kältegefühl an den Füßen vollständig wegfällt. In allen anderen Räumen sind in Asphalt verlegte Eichenholzfußböden.

Die Haupttreppe ist in eisenarmiertem Beton mit Eichenholzbelag ausgeführt.

Das Gebäude ist mit Lüftungskanälen und Zentralheizung nach dem Luftumwälzungsverfahren Körting eingerichtet. Für die Lüftung der Arbeitsräume sind noch außerdem im Grundgeschoß Luftvorwärmkammern mit Filter angelegt. Alle Heizkörper sind glatt und an den Innenwänden aufgehängt, um die Fensternischen für mikroskopische Arbeiten freizulassen.

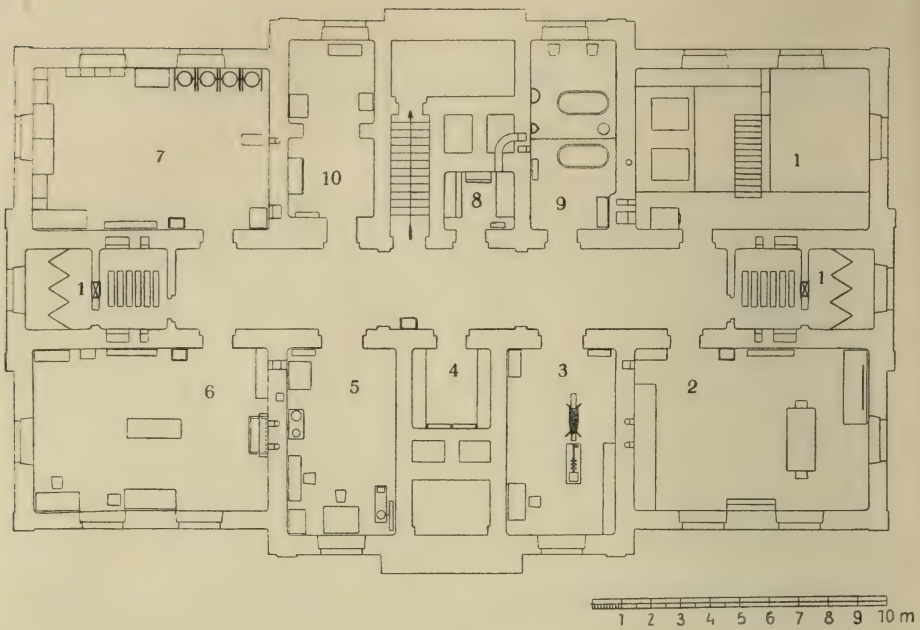


Fig. 1. Kellergeschoß.

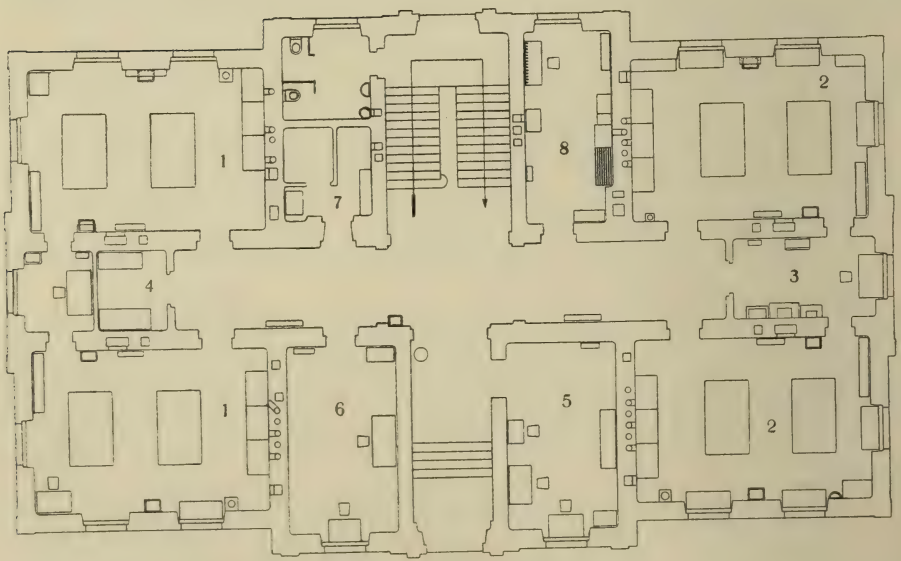


Fig. 2. Erdgeschoß.

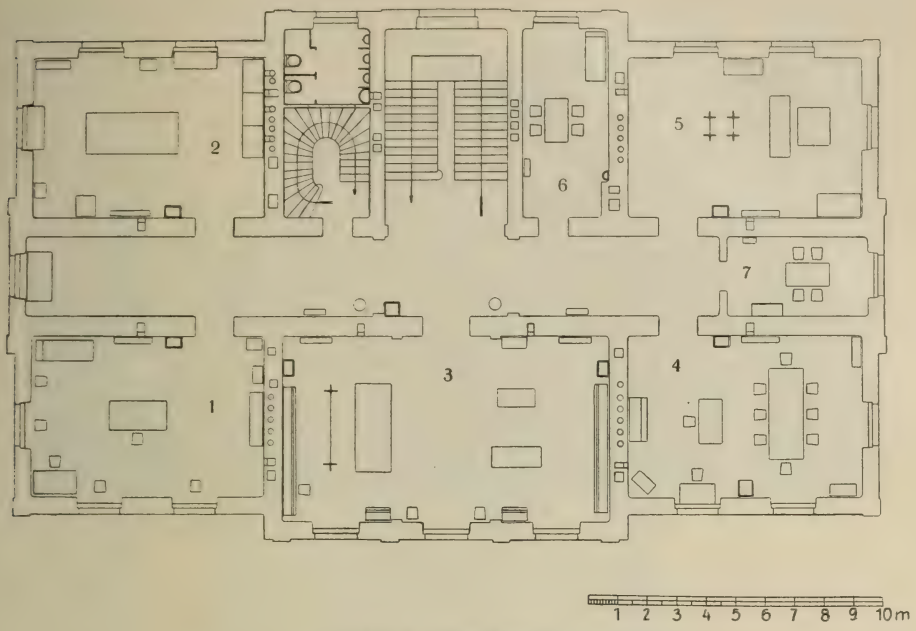


Fig. 3. Stockwerk.

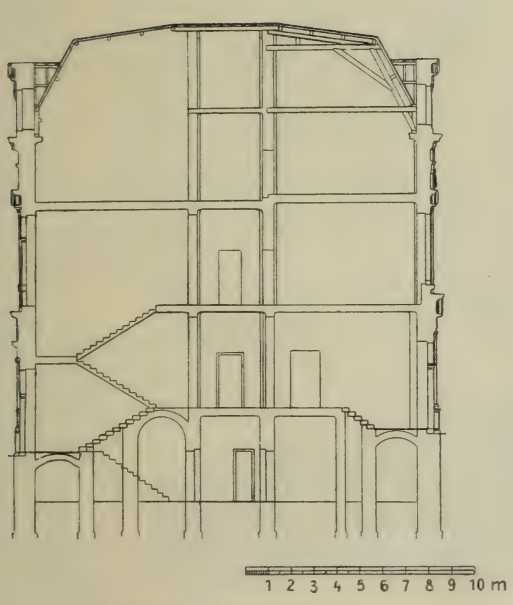


Fig. 4. Durchschnitt.

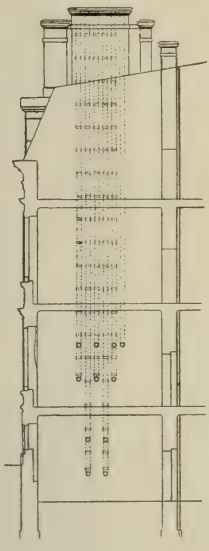


Fig. 5. Abzugskamine.

Fig. 6. Vorderansicht des Instituts.

Fig. 7. Laboratorium des Direktors.

Die Abflußleitungen im Innern des Gebäudes sind in Mauerschlitzen untergebracht, die durch aufgeschraubte Eisenblechdeckel jederzeit zugänglich sind. Die Abflußleitungen der Arbeitsräume hängen frei an den Decken der darunter liegenden Räume. Die Sammelleitungen im Innern des Gebäudes liegen zugänglich in mit Eisenplatten abgedeckten Kanälen unter dem Grundgeschoßfußboden. Zur Verwendung kamen nur säurefeste Tonröhren von Charlottenburg.

Als Fußleisten sind in den Räumen mit Plattenbelag Tonsockel mit Hohlkehle verwendet. Sämtliche ein- und ausspringende Ecken sind

Fig. 8. Blick in einen chemischen Arbeitssaal.

abgerundet, ebenso alle Mauerkanten und Ecken. Eine große Hohlkehle vermittelt den Uebergang zwischen Wänden und Decken.

Sämtliche Arbeitsräume sind in weißer abwaschbarer Emailfarbe gestrichen. Besonders gefährdete Stellen sind mit Kacheln oder großen emaillierten Platten belegt. Für die anderen Räume wurde Oelfarbenanstrich in hellen Tönen benutzt.

Die Wasserleitung ist in jedem Geschoß nach dem Ringsystem angelegt, 14 Steigrohre verbinden die Ringleitungen untereinander. Die Gasleitung verläuft mit der Wasserleitung und ist ebenfalls zur Erzielung eines gleichmäßigen Druckes nach dem Ringsystem angeordnet. Die Elektrizität wird im Dreileiter zu 120 und 240 Volt Gleichstrom von den städtischen Elektrizitätswerken geliefert. Alle Steigleitungen verlaufen in leicht zugänglichen Mauerschlitzen.

Die Hauptlaboratorien zu je zwölf Arbeitsplätzen, sind zur vollkommenen Lichtausnutzung an den 4 Ecken des Gebäudes untergebracht. Ihre Fenster besitzen in ihrem unteren Teil einen 0,50 m hohen, festen Rahmen ohne Mittelpfosten mit einer einzigen Scheibe, so daß die Flügel geöffnet werden können, ohne die in der Fensternische aufgestellten Instrumente zu berühren. Der Oberteil der Fenster läßt sich nach innen aufklappen. Doppelfenster sind für das hiesige Klima nicht erfordert. Die Fensterbretter sind aus emaillierter Masse und so breit (1,50 × 0,45 m), daß sie zum Mikroskopieren dienen können.

Fig. 9. Blick in einen großen Arbeitssaal.

Die Experimentiertische sind freistehend auf Füßen aufgestellt zur bequemen Reinigung. Die Tischplatte mißt 2,50 × 1,50 m. Sie besteht aus leicht sauber zu haltender emaillierter Masse. Die Abflußbecken sind in die Tischplatte selbst eingelassen, um das lästige seitliche Vorspringen zu vermeiden. Die Aufsätze für Flaschen sind schmal und können leicht abgenommen werden. An jedem Tisch ist zur Erzielung eines gleichmäßigen Druckes die Gas- und Wasserleitung ringförmig angeordnet und leicht zugänglich. Sämtliche Hähne sind vom Tischrande aus abstellbar.

Die kleineren Mikroskopier- und Arbeitstische haben eisernen Unterbau und emaillierte Platten. Alle Tischplatten haben Abtropfrinnen an ihrer Unterseite.

Die Abzugsschränke sind aus Eisen und Glas, mit emaillierten Tischplatten und Wandkacheln. Sie sind dreiteilig, mit vorderen Schiebe- und seitlichen Flügelfenstern. Die drei Abteilungen sind durch Schiebefenster getrennt. Vakuumpumpe, Gas- und Wasserleitung sind von außen abstellbar. Die Abzugsrohre dieser Schränke sind einzeln bis über das Dach durchgeführt und mit Deflektoren versehen. Die Entlüftung geschieht durch Lockflammen.

Eine eigene Haustelephonanlage dient zur Verbindung der einzelnen Räume; die Haupträume können durch ein Tableau an das Posttelephonnetz angeschlossen werden.

Fig. 10. Fensterplatz in einem bakteriol. Arbeitssaal.

Spucknäpfe sind in allen Räumen und Gängen aufgestellt. Sie stehen auf eisernen Füßen von 1 m Höhe.

Ein Gang durch die Anstalt zeigt uns im Grundgeschoß:

1. Zwei Vorwärm- und Lüftungskammern. Sie sind an den beiden Enden des das ganze Geschoß durchziehenden Mittelganges angelegt. Zwei Elektromotoren werfen die frische Luft in alle Arbeitsräume (Fig 1. *1. 1*);
2. der Raum für Elementar- und Elektroanalyse. Er dient vorläufig auch zur Herstellung der Nährböden (*2*);
3. der Raum für Mikrophotographie (*3*);
4. der Reagentienkeller (*4*);
5. der Destillierraum (*5*);

6. das Operations- und Sektionszimmer (*6*);
7. der Tierstall (*7*). Zur Durchführung des Viehseuchengesetzes ist der Bau besonderer Stallungen vorgesehen. Dieser Raum wird dann zur Herstellung und Aufbewahrung der Nährböden dienen;
8. das photographische Dunkelzimmer (*8*);
9. das Badezimmer mit Nickelwannen (*9*);
10. die Mechanikerwerkstätte (*10*);
11. der Kessel- und Kohleraum der Zentralheizung, mit dem Korischen Kohlenverbrennungsofen (*11*).

Fig. 11. Abzug für Elementaranalyse und Bereitung der Nährböden.

Im Erdgeschoß befinden sich:
1. das Wartezimmer (Fig. 2. *5*);
2. das Lesezimmer mit Zeitschriften (*6*);
3. zwei bakteriologische Arbeitsräume (*1. 1*);
4. das Polarimeter- und Spektroskopzimmer (*4*);
5. zwei chemische Arbeitsräume (*2. 2*);
6. das Präzisionswagenzimmer (*3*);
7. der Wärmeraum, mit Brutschränken und dem Brutzimmer (7). Die Brutschränke werden elektrisch betrieben, nach dem System Hearson, das sich am billigsten stellt. Das große Brutzimmer ist mit Korkziegeln in den Raum eingebaut und mißt ca. 10 Kubikmeter. Es wird durch Gasofen und Roux schen Thermoregulator auf konstanter Temperatur gehalten.
8. die Spülküche (*8*).

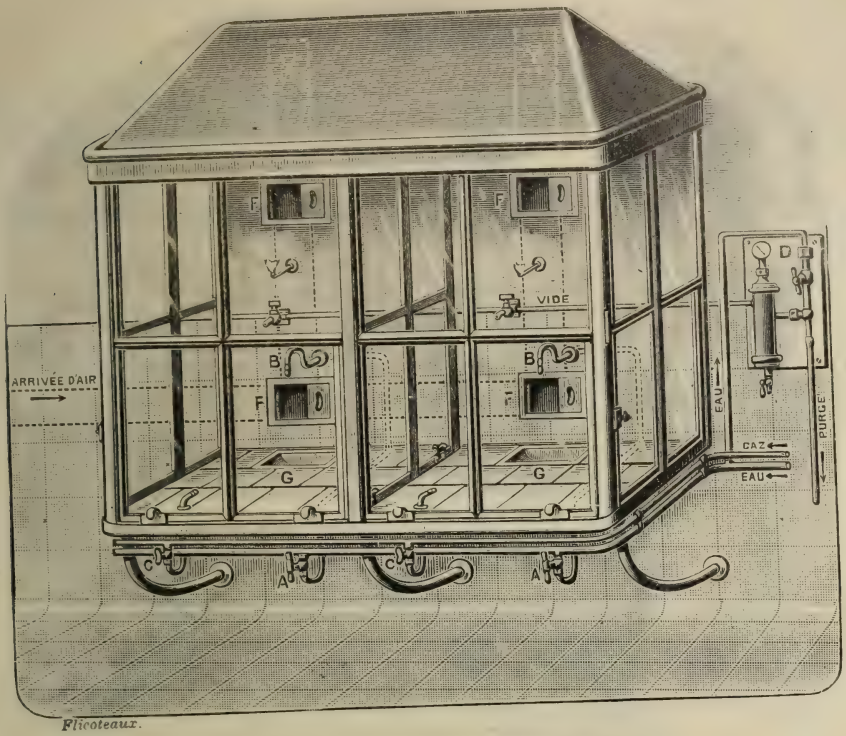


Fig. 12. Zweiteiliger Abzugsschrank.

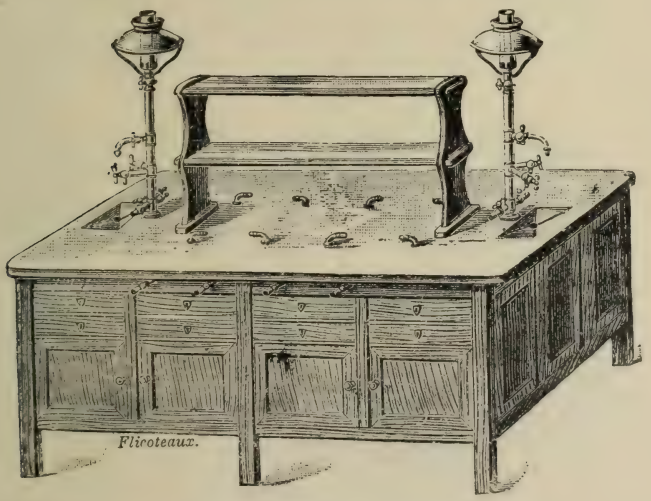


Fig. 13. Großer Arbeitstisch.

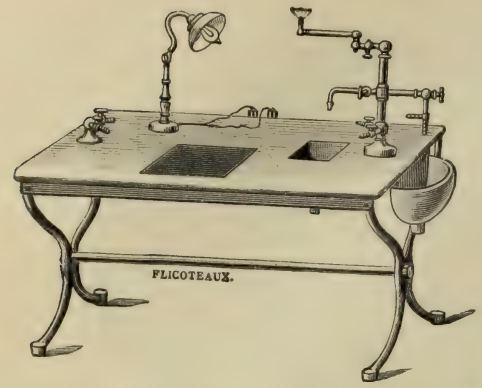


Fig. 14. Mikroskopiertisch mit eingelassenem Becken und dunkel gefärbtem Viereck für Beobachtungen auf dunklem Grund.

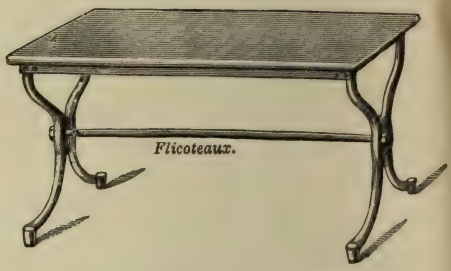


Fig. 15. Kleiner Arbeitstisch.

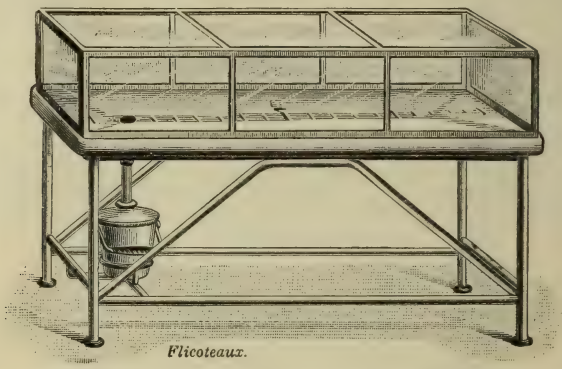


Fig. 16. Seziertisch mit Glasdeckel und Ablaufeimer.

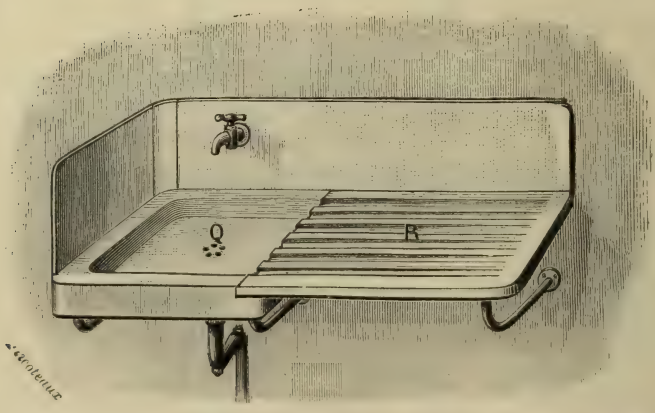


Fig. 17. Spülwanne aus emaillierter Masse mit Abtropfplatte.

Auf das Stockwerk sind verlegt:

1. das Bureau des Direktors (Fig. 3. *1*);
2. das Laboratorium des Direktors (*2*);
3. der Konferenz- und Bibliotheksaal (*3*). Zu Lehrzwecken ist er ausgerüstet mit dem Zeißschen Doppelprojektionstisch, dem Epidiaskop und einer vollständigen Pathéschen Einrichtung für Kinematographie. Die Projektionen erfolgen ohne Schirm direkt auf weiß gestrichene Wand;
4. der Sitzungssaal der Landesmedizinalbehörde (*4*);
5. das Röntgenzimmer (*5*);
6. zwei Bureauzimmer (*6. 7*).

Fig. 18. Spucknapf auf 1 m hohem Fuß.

Auf dem Speicher sind die Reserven an Apparaten, Glassachen und Chemikalien, sowie die seltener gebrauchten Bücher untergebracht. Als Schränke sind durchweg, wie auch in den übrigen Räumen, solche aus Stahlblech, mit erhöhter Rückwand und schrägem Dach, angeschafft worden.

Die Desinfektionsanstalt ist in einem eigenen Nebengebäude von 200 qm bebauter Fläche untergebracht. Ihr Bau kostete 20000 M., ihre innere Einrichtung 16000 M.

Der Dienst ist für stationäre und Wohnungsdesinfektion vorgesehen.

Die Anstalt ist nach den üblichen Regeln in reine und unreine Seite geschieden. Sie verfügt über zwei Dampfkessel, die den Dampf zum Betrieb der Apparate, der Wäscheeinrichtung, der Brause- und Wannenbäder abgeben.

Der Desinfektionsapparat arbeitet mit strömendem gesättigten Dampf von 115°; er kann auch als Formaldehydraum — mit Vakuumentleerung — benutzt werden. Eine eigene Formaldehydkammer ist jedoch vorgesehen.

Zwei Transportapparate dienen zur Beförderung der Desinfektionsobjekte.

Inhalt.

Eisenberg, Philipp, Untersuchungen über die Hämolyse durch chemische Agentien, p. 173.
Hahn, Arnold, Sternförmiger Plattenteiler. p. 228.
Lorentz, Friedrich H., Zur Dysenterie der Irrenanstalten, p. 113.
Miyagawa, Yoneji, Beziehungen zwischen Schistosomiasis japonica und der Dermatitis, unter Berücksichtigung der Methode der Auffindung von Parasiteneiern in den Faeces, und Beiträge zur Kenntnis der Schistosomum-Infektion, p. 132.
Praum, A., Das bakteriologische Staatslaboratorium in Luxemburg, p. 229.
Reichel, John and **Harkins, Malcolm, J.,** Peptotoxin production by the bacillus of contagious abortion of cattle. p. 142.
Rodella, A., Ueber die Granulosereaktion im Stuhle und ihre klinische Bedeutung, p. 167.
Trevisanello, Carlo, Untersuchungen über das Blutserum und die Cerebrospinalflüssigkeit von Epileptikern, p. 163.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 69. Heft 4.
Ausgegeben am 4. Juni 1913.

Nachdruck verboten.

Ueber Unterschiede in den biologischen Eigenschaften der Typhusbacillen.

[Aus dem pathologisch-bakteriologischen Institut der Landeskrankenanstalten in Czernowitz.]

Von **Hugo Raubitschek** und **Desider Natonek.**

Seitdem Přibram[1]) die kulturellen Eigenschaften der Typhusbacillen einer eingehenderen und vergleichenden Untersuchung unterzogen hat, haben sich unsere Kenntnisse auf diesem Gebiet vielfach erweitert und geändert. Vor allem hat die allgemeinere Verwendung von Nährböden, die die verschiedensten Zuckerarten und manche höheren Alkohole enthalten, mit ihrem diagnostischen Wert als Differenzialnährböden unsere Erfahrung über die kulturellen Eigenschaften der Typhusbacillen vertieft, und wir haben so auch Kenntnis von einer größeren Anzahl von Bakterienstämmen erhalten, die eine ätiologische Rolle bei typhusähnlichen infektiösen Darmerkrankungen spielen, deren Erreger jedoch sich in manchen kulturellen Eigenschaften von den Eberth-Gaffkyschen Bacillen unterscheiden. So war man schon seit Jahren gezwungen, Stämme, die sich durch die Gasbildung in traubenzuckerhaltigen Nährböden von den Typhusbacillen differenzieren, als eine eigene Gruppe anzuerkennen, und besonders in den letzten Jahren ist das Streben, vor allem auf Grund kultureller Eigenschaften, insbesondere auf zuckerhaltigen Nährböden, neu herauskultivierte Stämme zu definieren und sie dementsprechend einzuteilen, unverkennbar.

Dabei machte man aber sehr bald die auffällige Beobachtung, daß eine große Anzahl von ähnlichen Stämmen sich nur auf dem einen oder anderen Nährboden einer Zuckerart gegenüber different verhält, so daß man diese Stämme nicht ohne weiteres einem der bekannten Typen zuordnen konnte; so gelangte man aber in konsequenter Verfolgung des Prinzipes, Bakterienstämme lediglich nach ihren kulturellen Eigenschaften zu definieren und zu systemisieren, binnen kurzem zu so einer großen Anzahl differenter, aber sehr ähnlicher Stämme, daß diese ganze Gruppe hierher gehöriger Kulturen unübersichtlich, ja fast verwirrend geworden ist.

Deshalb hat auch schon längst mancher Autor mit Recht seinen Zweifel darüber geäußert, ob die kulturellen Eigenschaften eines Stammes, insbesondere auf einem der zahlreichen Zuckernährböden, wirklich ein hinreichend präzises und bedeutsames Merkmal darstellen, und ob nicht die Wichtigkeit kultureller Eigenschaften auf den Zuckernährböden in dem Sinne überschätzt wird, daß ein abnormales Verhalten auf irgendeinem dieser Nährböden bereits genügt, um diese Kultur als einen Stamm sui generis anzusprechen und ihn als neue Art aufzustellen.

Dabei erscheint ein Moment in allen einschlägigen Untersuchungen auffallend wenig gewürdigt. Nur selten hat man sich die Frage vorgelegt, bzw. zu beantworten versucht, ob typische Typhusstämme wirk-

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 54. 1906.

lich auf zuckerhaltigen Nährböden ganz übereinstimmend wachsen, und ob es nicht auch unter den echten Eberth-Gaffkyschen Kulturen individuelle Differenzen gibt, die dann das abweichende Verhalten typhusähnlicher Stämme leichter erklären würden.

Aus diesen Gründen erschien uns eine neuerliche Untersuchung zahlreicher Typhusstämme trotz der ausgedehnten einschlägigen Literaturbefunde erwünscht. Die dabei gewonnenen Resultate dünken uns bemerkenswert genug, um die Aufmerksamkeit auf sie zu lenken. Wir haben uns, um die Fragestellung möglichst zu umgrenzen und in einem gewissen Sinne zu präzisieren, die Aufgabe gestellt, die kulturellen Eigenschaften vieler sicherer Typhusstämme auf Nährböden, die verschiedene Zuckerarten und diesen nahestehende mehratomige Alkohole enthalten, vergleichsweise zu studieren. Bei unseren Untersuchungen gingen wir jedoch von einer durchaus neuen Voraussetzung aus, und dieser Umstand bildet den prinzipiellen Unterschied unserer Versuche von mehreren ähnlichen Arbeiten, indem wir nicht wahllos zahlreiche Typhusstämme der verschiedensten Provenienz und ungleichen Alters auf mehreren Nährböden prüften. Vielmehr gewannen wir unsere Typhusstämme, indem wir aus den Organen **einer** Typhusleiche die Reinkulturen züchteten; in der Erwägung, daß die Typhusinfektion beim Menschen praktisch in dem Sinne einheitlich erfolgen dürfte, daß ein Individuum sich zu einer bestimmten Zeit unter gewissen äußeren Umständen einmal erfolgreich infiziert, so daß man annehmen darf, daß sämtliche Stämme, die man aus den Organen dieses Individuums gewinnen kann, auf einen einzigen Typhusstamm, den ursprünglich infizierenden, zurückgeführt werden können. Dazu kommt noch, daß wir trotz der Tatsache, daß es sich beim Abdominaltyphus um eine Bakteriämie handelt, daß also die Typhuskulturen, die wir aus den einzelnen Organen reinzüchten können, aus dem Blute der Organe stammen dürften, immerhin mit der Möglichkeit rechnen mußten, daß der Chemismus der Organe nicht ohne Einfluß auf die kulturellen Eigenschaften der Stämme ist, die aus diesen Organen reingezüchtet werden können. Haben doch gerade die Erfahrungen der letzten Jahre gezeigt, wie überaus leicht auch eine kurze Einwirkung verschiedener chemischer Stoffe auf bestimmte Bakterienstämme die kulturellen Eigenschaften zu verändern imstande ist.

Wir konnten demnach aus unseren Versuchen auch das Ergebnis erwarten, daß aus bestimmten Organen kultivierte Typhusstämme sich durch gewisse kulturelle Eigentümlichkeiten von Stämmen unterscheiden, die aus einem anderen Organ, wenn auch derselben Leiche, gewonnen wurden.

Gerade dieses Moment aber, daß wir Typhuskulturen, die aus einer Leiche, aber aus verschiedenen Organen gezüchtet wurden, vergleichend kulturell untersuchten, bildet den wesentlichsten Unterschied unserer Arbeit von einer Veröffentlichung über denselben Gegenstand von Ditthorn[1]), die erschienen ist, als unsere Versuche fast abgeschlossen waren. Auch Ditthorn hat das Verhalten zahlreicher Typhusstämme zu verschiedenen Zuckerarten und diesen nahestehenden mehratomigen Alkoholen vergleichend geprüft, und ist zu dem bemerkenswerten Resultat gekommen, daß die Typhusbacillen Nährböden, die Traubenzucker, Galaktose, Maltose oder Mannit

1) Dies. Centralbl. Bd. 67. 1913.

enthalten, durchaus regellos verändern, so daß insbesondere die Traubenzuckernährböden, die so vielfache diagnostische Verwertung finden, für diese Zwecke auch nach tagelanger Beobachtung unverwendbar sind.

Ditthorn hat aber wahllos zahlreiche Stämme, scheinbar der verschiedensten Provenienz und des verschiedensten Alters (darüber finden sich leider in seiner Arbeit keine Angaben) geprüft. Wir hingegen gewannen unsere Reinkulturen, indem wir mehrere Organe zweier Typhusleichen (Fall „α" und Fall „73"), die durchaus typische pathologische Veränderungen bei der Obduktion aufwiesen, in der üblichen Weise auf Endo-Platten kultivierten und so zahlreiche Reinkulturen gewannen. Auch die weitere Prüfung geschah unter möglichst gleichen äußeren Bedingungen, indem wir als Nährboden durchweg, der Gleichmäßigkeit halber, eine 1-proz. Nutroselösung mit $^1/_2$-proz. NaCl wählten, der dann der zu prüfende Zucker (Alkohol) in 2-proz. Konzentration und überdies Lackmustinktur in 5-proz. Konzentration zugesetzt und an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durch je eine Viertelstunde im strömenden Dampf sterilisiert wurde. Hervorgehoben zu werden verdient noch, daß wir besondere Sorgfalt darauf verwendeten, mit möglichst gleichen Mengen Kulturmaterial die einzelnen Nährböden zu beimpfen, die serienweise gleichzeitig hergestellt wurden, um möglichst vergleichbare Resultate zu ermöglichen. Die geimpften Röhrchen blieben dann mehrere Tage in der Brutkammer bei 37° C; die auftretenden Aenderungen in Farbe und Aussehen (Koagulation) wurden täglich aufgezeichnet, wenn auch in der nachstehenden Tabelle I der Einfachheit halber nur das Resultat nach viertägiger Bebrütung wiedergegeben erscheint. Wir machten nämlich die Erfahrung, daß nach dem vierten Tag nur in den seltensten Fällen eine wesentliche Aenderung des Resultates vorkam, daß in der Regel das Aussehen der einzelnen Röhrchen sich auch nach drei Wochen nicht prinzipiell änderte. Wenn eine Versuchsreihe mit einem der verwendeten Zuckerarten oder Alkohole abgebrochen wurde, so wurde grundsätzlich die Reinheit der Kultur in den einzelnen Röhrchen auf Endo-Platten geprüft. Die auf den Endo-Platten gewachsenen Kolonieen (es waren ausnahmslos Reinkulturen) wurden zu weiteren Versuchen nicht mehr verwendet, vielmehr gingen wir beim Beimpfen einer jeden neuen Nährbodenreihe grundsätzlich von unseren Originalstämmen auf Schrägagar aus, um zu vermeiden, daß sich die kulturellen Eigenschaften irgendeines Stammes nicht unter dem Einfluß eines bereits geprüften Zuckers in unkontrollierbarer Weise verändern.

Die Resultate, die wir bei der Prüfung unserer Stämme (es waren insgesamt 31, und zwar 17 Kulturen des Falles α und 14 Kulturen des Falles 73) beobachten konnten, waren im allgemeinen übereinstimmend, wenn wir unsere Stämme auf Nährlösungen kultivierten, die Milchzucker, Glyzerin, Dextrin, Glykogen oder Amylum in 2-proz. Konzentration enthielten. In allen diesen Fällen waren nach 4-tägigem Wachstum der Bakterien bei 37° C die Röhrchen entweder überhaupt unverändert oder gegenüber den steril gehaltenen Kontrolllösungen nur leicht gerötet. Jedenfalls haben sich bemerkenswerte Differenzen im Wachstum der einzelnen Stämme nicht gezeigt, so daß es sich erübrigt, diese Versuchsreihen detaillierter zu beschreiben. Dagegen ergaben unsere analog angestellten Kulturversuche in Nutroselösungen, die Traubenzucker, Mannit, Galaktose, Maltose oder Rohrzucker in 2-proz. Konzentration enthielten, so auffällig differente Befunde, daß sie verdienen, in Tabelle 1 einzeln wiedergegeben zu werden.

Tabelle I.

	Traubenzuckernutrose-Lösung nach 4 Tagen	Maltosenutrose-Lösung nach 4 Tagen	Galaktosenutrose-Lösung nach 4 Tagen	Mannitnutrose-Lösung nach 4 Tagen	Rohrzuckernutrose-Lösung nach 4 Tagen
73 Galle α	schwach rot	st. ger., koag.	leicht gerötet	schwach gerötet	unverändert
„ β	stark rot	fast unverändert	stark gerötet	stark gerötet	leicht gerötet
„ γ	dgl.	schwach gerötet	leicht gerötet	schwach gerötet	unverändert
„ δ	n. 24 St. schon rot u. koag.	dgl.	stark gerötet	stark gerötet	„
„ ε	stark rot, koag.	„	sehr st. ger.	dgl.	„
„ ϰ	stark rot	„	stark gerötet	„	„
Milz α	stark rot, koag.	fast unverändert	„	sehr stark gerötet	„
„ β	n. 24 St. schon koag., st. rot	stark gerötet	„	schwach gerötet	„
„ γ	stark rot, koag.	dgl.	„	st. rot, koag.	„
„ ε	stark rot	schwach gerötet	st. ger., koag.	stark gerötet	„
„ ϰ	schwach rot	dgl.	sehr st. ger.	dgl.	„
„ λ	stark rot	„	dgl.	schwach gerötet	„
Lunge α	stark rot, koag.	stark gerötet	„	stark gerötet	„
„ β	schwach rot	schwach gerötet	„	schwach gerötet	„
„ γ	stark rot	fast unverändert	„	stark gerötet	„
Leber α	stark rot, koag.	schwach gerötet	„	dgl.	stark gerötet
„ β	stark rot	dgl.	„	„	unverändert
α Blut 1	stark rot, koag.	koag., st. ger.	leicht gerötet	st. ger., koag.	schw. koag.
„ 2	fast unverändert	schwach gerötet	stark gerötet	schwach gerötet	unverändert
„ 3	stark rot, koag.	dgl.	nach 24 Std. koag., st. ger.	stark gerötet	„
„ 4	nach 24 Std. stark rot, koag.	sehr st. ger.	sehr st. ger.	dgl.	„
Galle 1	schwach rot	unverändert	dgl.	„	„
„ 2	stark rot, koag.	stark gerötet	„	st. ger., koag.	stark gebläu
„ 3	dgl.	dgl.	„	schwach gerötet	leicht gebläu
„ 4	schwach rot	schwach gerötet	s. st. ger., koag.	fast unverändert	unverändert
„ 5	stark rot	dgl.	dgl.	stark gerötet	„
Niere 1	stark rot, koag.	stark gerötet	stark gerötet	schwach gerötet	„
Darm 2	schwach rot	schwach gerötet	dgl.	dgl.	„
Leber 1	stark rot	dgl.	s. st. ger., koag.	„	„
„ 2	schwach rot	„	stark gerötet	„	„
„ 3	stark rot, koag.	„	dgl.	stark gerötet	stark geröte

Es zeigt sich also, daß das Verhalten der Typhusbacillen in Nutroselösungen, die Traubenzucker, Galaktose, Mannit, Maltose oder Rohrzucker enthalten, ganz unregelmäßig und wenig konstant ist. Somit konnten unsere Erfahrungen die Befunde Ditthorns nur bestätigen. Was aber unseren Versuchen eine prinzipielle Bedeutung verleiht, ist ja der Umstand, daß wir unsere Stämme aus einer einheitlichen Quelle gewannen und wir somit unsere Schlußfolgerungen weiter als Ditthorn fassen dürfen. Auch unsere Stämme, die aus einer Leiche kultiviert wurden, verändern die genannten Nährlösungen nicht einheitlich und übereinstimmend, sondern in durchaus unregelmäßiger Weise, und bei der peinlichen Sorgfalt, mit der wir die Gleichmäßigkeit aller anderen äußeren Bedingungen (Zubereitung der Nährlösungen, Menge des verimpften Materials etc.) beobachteten, scheint der Schluß gerechtfertigt, daß sich Typhusstämme nicht nur im allgemeinen auf jenen 5 Nährlösungen inkonstant und unregelmäßig verhalten, sondern daß auch mehrere Typhuskulturen einer Typhusleiche, trotz ihrer nahen Beziehungen untereinander, trotzdem ein gleiches „Alter" aller dieser Kulturen vorausgesetzt werden kann, durchaus ungleichmäßig die genannten

Nährlösungen verändern. Bei diesem Befund ist auf die Beobachtungsdauer unserer Versuche an und für sich nur wenig Gewicht zu legen, da wir auch 2 Wochen später noch keine prinzipiellen Aenderungen im Aussehen der Nährlösungen feststellen konnten. Vielmehr koaguliert auch nach dieser langen Bebrütungszeit immer nur etwa die Hälfte der Kulturen, und in jeder Versuchsreihe traten immer vereinzelte Stämme auf, die die Nährböden überhaupt nur wenig veränderten und nur schwach röteten. Diese Eprouvetten gaben im Kontrast mit den rosenrot verfärbten und koagulierten Nährlösungen ein so buntes Bild, daß niemand ohne Information schließen konnte, daß es sich durchaus um Typhuskulturen, zumal aus einer Leiche, handelt.

Dabei muß man noch berücksichtigen, was wegen der Art, wie Ditthorn seine Versuche darstellt, nicht ersichtlich wird, daß auch ein bestimmter Stamm sich auf den verschiedenen Nährlösungen durchaus ungleichmäßig verhält. So koaguliert Stamm „73 Galle δ" schon nach 24 Stunden — als erster von allen unseren Typhuskulturen — die Traubenzuckernutroselösung, verändert aber die Maltoselösung nur schwach, die Rohrzuckerlösung gar nicht, oder, um noch ein Beispiel anzuführen, der Stamm „α Galle 4", der die Galaktoselösung stark rötet und koaguliert, rötet die Traubenzuckerlösung nur leicht, ebenso die Maltoselösung und läßt den Rohrzuckernährboden überhaupt unverändert. Man wird demnach die Eigentümlichkeit einzelner Stämme, bestimmte Nährlösungen intensiver zu verändern, als andere artgleiche Kulturen, nicht in dem Sinne erklären können, daß sich einige Stämme durch besondere Wachstumsenergie, Vermehrungsfähigkeit auszeichnen, und deshalb die Nährlösungen mehr und rascher verändern als die übrigen Kulturen. Will man aber das eigentümliche Verhalten einiger Typhusstämme in gewissen Nährlösungen damit erklären, daß diese Stämme nur in gewissen Nährlösungen besser wachsen und diese aus diesem Grunde rascher und stärker verändern als andere Typhusstämme, so hätte man dasselbe Phänomen, eine individuell verschiedene Vorliebe bestimmter Typhuskulturen zu bestimmten Zuckerarten — und deshalb intensiveres Wachstum — nur mit einem anderen Wort bezeichnet.

Eine gesonderte, wenn auch kurze Betrachtung verdienen noch schließlich unsere Kulturen, wenn man sie nach den Organen ordnet, von denen sie stammen. Denn ein kurzer Blick auf die Tabelle 1 zeigt, daß unsere ursprüngliche Annahme sich als ungerechtfertigt hingestellt hat, daß sich geringe kulturelle Differenzen unserer Stämme entsprechend den Organen ergeben würden, aus denen sie gezüchtet wurden. Denn weder zeigen die 6 aus der Galle kultivierten Stämme des Falles 73 irgendwelche gemeinsame kulturelle Eigenschaften untereinander, noch auch mit den 5 Stämmen derselben Provenienz des Falles α. In ähnlicher Weise könnte man auch die übrigen angeführten Stämme gruppieren, und muß so zu dem Schlusse kommen, daß der Chemismus der Organe auf die kulturellen Eigenschaften der Stämme, die aus ihnen gewonnen werden können, keinen Einfluß hat.

Bei der Prüfung unserer Mannitnährböden konnten wir auch mehrfach den wichtigen Einfluß der Sterilisationsdauer der Nährböden auf das Resultat der Versuche feststellen und uns so neuerdings von der Berechtigung der bekannten Vorschrift überzeugen, bei Anfertigung der Lackmuszuckernährböden vorsichtig und so kurz als möglich zu sterilisieren. Wenn wir nämlich die Kultureprouvetten an 3 aufeinanderfolgenden Tagen durch je eine Viertelstunde dem strömenden Dampf aus-

setzten, so traten die ersten nennenswerten Farbenumschläge in den einzelnen Röhrchen erst am 2. oder 3. Tage der Bebrütung auf, und nur der eine oder andere unserer Typhusstämme zeigte am 4. Tage intensive Rötung, und erst viele Tage später traten vereinzelte Koagulationen ein. Sterilisiert man jedoch überhaupt nur zweimal, das erste Mal etwa 10 Minuten, den folgenden Tag ebenso lange oder unbedeutend länger, so traten — unbedingte Keimfreiheit der Nährlösungen war natürlich Voraussetzung, von der wir uns stets vor der Impfung durch tagelangen Aufenthalt der Nährlösungen in der Brutkammer überzeugten — schon nach 24 Stunden in einzelnen Röhrchen Koagulationen auf, und nach 4 Tagen war nur die eine oder andere Eprouvette stark gerötet, die übrigen koaguliert.

Es ist leicht, einzusehen, warum diese Beobachtungen besonders in einer Richtung unser Interesse erweckten. Die weitgehenden kulturellen Differenzen im Verhalten einzelner Typhusstämme zu verschiedenen Zuckerarten und diesen nahestehenden mehratomigen Alkoholen erscheinen schon in den Versuchen Ditthorns bemerkenswert genug; sie wären aber immerhin durch die Annahme verschiedener Stämme der verschiedensten Herkunft und ungleichen Alters zur Not zu erklären. Bei unseren Kulturen handelt es sich jedoch ausnahmslos um Typhusstämme, die aus verschiedenen Organen zweier Leichen gewonnen werden konnten; dazu kommt noch, daß das Verhalten unserer Stämme jede Regelmäßigkeit und jede gemeinsame Charakteristik vermissen läßt, gleichgültig, ob wir sie nach den Organen, oder, und das wäre ja das Bemerkenswerte, ob wir sie nach den Fällen (α oder 73) gruppieren wollen.

Denn wir müssen, nicht nur unter der Voraussetzung, daß die Typhusinfektion beim Menschen in dem schon früher angedeuteten Sinne einheitlich erfolgt, sämtliche Stämme, die wir aus den Organen einer Leiche gewinnen können, als Abkömmlinge jener Bacillen auffassen, die ursprünglich die Infektion verursacht haben. Die Annahme jedoch, daß eine Typhusinfektion durch zahlreiche, kulturell differenzierbare Typhusbacillenvarietäten hervorgerufen wird, bietet dem Verständnis ungleich größere Schwierigkeiten, zumal sie experimentell unbewiesen dasteht. So bliebe also nur die Möglichkeit, daß Abkömmlinge eines oder mehrerer Typhusbacillen, die wir wohl unter Berücksichtigung der praktischen Verhältnisse als einen Stamm für sich ansprechen dürften, der die Infektion verursachte, unter sich kulturelle Differenzen aufweisen, indem sie gewisse Nährböden nicht übereinstimmend verändern, wiewohl sie aus einer oder einigen Bakterienzellen hervorgegangen sind.

Wir haben versucht, dieser Frage auf experimentellem Wege näherzutreten, indem wir eine Reinkultur eines Stammes, der, abgesehen von seiner ersten Isolierung, auf der Endo-Platte noch nie in künstlicher Kultur unter dem Einfluß einer Zuckerart gestanden war, auf mehreren Agarplatten züchteten. Zahlreiche isoliert gewachsene Kolonieen wurden nun abgestochen, und so mehrere Reinkulturen gewonnen, die alle unmittelbar auf die Ausgangskultur als Derivate zurückgeführt werden können. Auf diese Art haben wir versucht, eine Reinkultur, die ja auch seinerzeit aus einer Kolonie einer Endo-Platte gewonnen wurde, in mehrere Reinkulturen gleichsam aufzuspalten, und sind so in den Besitz zahlreicher Typhusstämme gelangt, die in ähnlicher, wenn auch nicht analoger Weise auf eine einheitliche Gruppe von Typhusbacillen

zurückgeführt werden können, wie dies bei der Typhusinfektion des Menschen mit ihren zahlreichen Stämmen in den verschiedenen Organen und den ursprünglich infizierenden Bacillen der Fall sein dürfte.

Wir haben diese Zerlegung einer Reinkultur in mehrere Stämme in 2 Fällen durchgeführt, indem wir den Stamm „73 Lunge β", der die Traubenzuckerlösung nur schwach rötet, und den Stamm „α Niere 1", der denselben Nährboden intensiv säuert und koaguliert, durch Aussaat auf mehrere Agarplatten und getrenntes Abstechen isoliert gewachsener Kolonieen in je 12 Reinkulturen aufgespalten, die wir kurz als „L" und „N" bezeichneten, und fortlaufend numerierten. Unsere 12 N- bzw. L-Stämme bilden demnach in einem gewissen Sinne einen Teil der Reinkultur „α Niere 1" bzw. „73 Lunge β", und es war für uns von großem Interesse, das Verhalten dieser 24 Stämme zu den verschiedenen Zuckerarten (resp. Mannit) vergleichend in ähnlicher Weise zu prüfen, wie wir das früher bei unseren Stämmen der Fälle α und 73 beschrieben haben.

Tabelle 2.

	Traubenzucker-nutroselösung nach 4 Tagen	Galaktose-nutroselösung nach 4 Tagen	Mannit-nutroselösung nach 4 Tagen
N 1	sehr stark gerötet	stark gerötet	schwach gerötet
N 2	dgl.	dgl.	stark gerötet
N 3	„	nach 24 Std. koagul., sehr stark gerötet	schwach gerötet
N 4	sehr stark geröt., koagul.	stark gerötet	stark gerötet
N 5	sehr stark gerötet	nach 2 Tagen koag., sehr stark gerötet	dgl.
N 6	sehr stark geröt., koagul.	stark gerötet	„
N 7	sehr stark gerötet	dgl.	„
N 8	dgl.	„	stark gerötet, koag.
N 9	schwach gerötet	gerötet	stark gerötet
N 10	sehr stark gerötet	stark gerötet	schwach gerötet
N 11	dgl.	sehr stark gerötet	dgl.
N 12	nach 2 Tagen koaguliert, sehr stark gerötet	gerötet	„
L 1	gerötet	sehr stark gerötet	schwach gerötet
L 2	„	fast unverändert	dgl.
L 3	„	stark gerötet	stark gerötet
L 4	sehr stark gerötet	dgl.	schwach gerötet
L 5	nach 2 Tagen koaguliert, sehr stark gerötet	sehr stark gerötet, koaguliert	sehr stark gerötet, koaguliert
L 6	sehr stark geröt., koagul.	gerötet	stark gerötet
L 7	dgl.	sehr stark gerötet	stark gerötet, koag.
L 8	„	gerötet	stark gerötet
L 9	sehr stark gerötet	stark gerötet	stark gerötet, koag.
L 10	sehr stark geröt., koagul.	fast unverändert	schwach gerötet
L 11	gerötet	stark gerötet	stark gerötet, koag.
L 12	stark gerötet	dgl.	stark gerötet

Aus dieser Zusammenstellung ist ohne weiteres zu ersehen, daß auch unsere N- und L-Stämme die angeführten Nährlösungen durchaus ungleichmäßig verändern. In dieser Beziehung verhalten sie sich also ganz analog unseren α- und 73-Kulturen, und nach dem Ausfall dieser Versuchsreihen sehen wir keine Schwierigkeit, unsere Stämme, die aus verschiedenen Organen einer Typhusleiche gewonnen wurden, trotz ihrer weitgehenden kulturellen Differenzen, auf eine einheitliche Gruppe von Typhusbacillen zurückzuführen, die ursprünglich die Infektion hervorgerufen hat.

Viel Interesse bietet schließlich noch der Umstand, daß sich unsere beiden Stämme, die die Ausgangskulturen für unsere N- und L-Stämme bilden, auf der Traubenzucker-Nährlösung sehr different verhalten, indem der Stamm „73 Lunge β", von dem die 12 L-Stämme gewonnen wurden, die Glykoselösung nur schwach säuert, während der Stamm „α Niere 1", der die Ausgangskultur für unsere N-Stämme bildet, diese Nährlösung rasch und stark rötet und koaguliert. Ein Blick auf die Tabelle 2 zeigt aber, daß dieses differente Verhalten der Ausgangsstämme zu Traubenzucker bei den N- und L-Stämmen nicht nur nicht zum Ausdruck kommt, sondern daß im Gegenteil verhältnismäßig mehr L-Stämme den Nährboden koagulieren als N-Stämme.

Ueberdies darf man unsere Versuche als Unterstützung der immerhin hypothetischen Annahme auffassen, daß individuelle Verschiedenheiten der einzelnen Keime einer Reinkultur und ihrer Abkömmlinge vorkommen, und daß diese Verschiedenheiten so weitgehend sein können, daß sie schon durch unsere, für solche subtile Fragen sicher recht primitive Versuchsanordnung zum Ausdruck kommen.

Aehnliche Beobachtungen hat erst unlängst Burri in seiner bekannten Arbeit über die sogenannte Mutation ganz kurz erwähnt[1]), indem auch er auf Grund seiner anderweitig gewonnenen Erfahrungen eine individuelle Verschiedenheit der einzelnen Keime einer Reinkultur und ihrer Nachkommenschaft annimmt, „Verschiedenheiten, die, nebenbei gesagt, auf niedriger Entwickelungsstufe ein schönes Beispiel für die naturgesetzliche Tatsache bilden, daß die von einer Mutterzelle stammenden Tochterzellen unter sich selten vollkommen identisch sind, sondern meist geringe Abweichungen zeigen".

Man wird aber durch die in Tabelle 2 niedergelegten Befunde ohne weiteres zu der Vorstellung gedrängt, daß — um ein konkretes Beispiel anzuführen — die Reinkultur „73 Lunge β" aus Bakterienindividuen besteht, die einen traubenzuckerhaltigen Nährboden nicht übereinstimmend verändern. Neben Bakterienzellen, die Traubenzucker überhaupt nicht nennenswert anzugreifen vermögen, und solchen Bacillen, die überaus intensiv Glykose zu spalten imstande sind, dürfte es alle möglichen Zwischenstufen geben, die in ihrer Gesamtheit eben die Kultur „73 Lunge β" darstellen. Es liegt so die Vermutung nahe, daß jene Bakterienindividuen, die Glykose zerlegen können, in einem traubenzuckerhaltigen Nährboden ungleich bessere Wachstumsbedingungen vorfinden, als jene Typhusbacillen, die sozusagen mit Glykose wenig oder nichts anzufangen wissen. Daß aber die Traubenzucker spaltenden Bacillen infolge der zusagenden Wachstumsbedingungen in solchen Nährböden rasch das numerische Uebergewicht über anders geartete Typhusbacillen erhalten, ist leicht einzusehen. Und aus diesen Erwägungen erscheint auch die Beobachtung nicht weiter auffällig, daß verschiedene Typhusstämme verschieden rasch bestimmte Zuckernährböden zu verändern imstande sind, wenn wir annehmen, daß in jeder Reinkultur die einzelnen Bakterienzellen ein individuell verschiedenes Verhalten den verschiedenen Zuckerarten gegenüber aufweisen, und daß solche Bakterientypen in jeder Reinkultur in verschiedener Anzahl enthalten sind.

Wir haben den Eindruck, daß sich so manche der oben angeführten Beobachtungen plausibel erklären lassen, und daß das differente Ver-

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Orig. Bd. 28. 1910. p. 334.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Einführung in die höhere Mathematik

für Naturforscher und Ärzte.

Von

Dr. J. Salpeter.

Mit 147 Figuren im Text. (XIV u. 336 S. gr. 8.°) 1913.

Preis: 12 Mark, geb. 13 Mark.

Aus dem Vorwort.

Vorliegendes Buch will eine Einführung in die höhere Mathematik für Naturforscher und Aerzte sein, wobei der Zusatz „für Naturforscher und Aerzte“ eine doppelte Bedeutung haben soll, nämlich erstens in Bezug auf die Auswahl, zweitens in Bezug auf die Behandlung des Stoffes.

Was zunächst die Behandlung des Stoffes betrifft, so ergibt sich für die Strenge und Exaktheit der Definitionen und Beweisführungen durch praktische Rücksichten eine Grenze nach oben. Es nützt nicht viel, die Differential- und Integralrechnung auf vollkommen strengen Grundlagen systematisch zu entwickeln, wenn diese Entwicklungen von denjenigen, für die sie bestimmt sind, nicht verstanden, folglich nicht gelesen werden. Ich habe mehrfach Gelegenheit gehabt, Naturforschern persönlich Unterricht der höheren Mathematik zu erteilen, und habe dabei durch nicht uninteressante psychologische Experimente eine obere Grenze für die mathematische Aufnahmsfähigkeit festsetzen können, die zum mindesten für die Mehrzahl gilt und wohl

durch die besonderen Arbeitsmethoden des Naturforschers und des wissenschaftlich tätigen Arztes bedingt ist. Beispielsweise habe ich es so weit gebracht, daß die Herren die Stetigkeit von sin x, cos x usw. mittels der ε-Methode zu beweisen vermochten, konnte mich jedoch überzeugen, daß ihnen das Wesen der ε-Methode doch ganz fremd geblieben ist, was um so weniger zu verwundern ist, als ja bekanntlich diese Methode auch jüngern Studenten der Mathematik, bei denen man wohl eine spezielle Veranlagung für Mathematik voraussetzen darf, Schwierigkeiten bereitet. In der Tat, solange man sich auf das Studium der „vernünftigen" Funktionen beschränkt, überwiegt die geometrische Anschauung derart, daß es dem Anfänger unmöglich ist, die Zweckmäßigkeit der Arithmetisierung einzusehen. Aus diesem Grunde verzichte ich in diesem Buche vollständig auf die ε-Definitionen und ε-Beweise und mache einen um so ausgiebigeren Gebrauch von der „naiven" geometrischen Anschauung. So nehme ich keinen Anstand, eine stetige Funktion durch die Eigenschaft zu definieren, daß ihre Bildkurve „nirgends abreißt" (beschränke mich also von vornherein auf Funktionen, die einer geometrischen Veranschaulichung fähig sind), stelle es ferner als durch die Anschauung unmittelbar gegeben hin, daß eine stetige Funktion nicht von negativen zu positiven Werten übergehen kann, ohne die Null zu passieren, fasse es als „selbstverständlich" auf, daß für eine stetige Funktion $\lim_{h=o} f(x+h) = f(x)$ ist (und zeige erst in einem Anhang, daß es zweckmäßiger ist, diese Gleichung als Definition der Stetigkeit einer Funktion aufzustellen). — Ich glaube, daß dem Anfänger kein Schaden dadurch erwächst, daß ich seiner „naiven" geometrischen Anschauung entgegenkomme; er würde sich — nicht mit Unrecht — dagegen sträuben, wenn man ihn zum Verzicht auf diese zwingen würde. Der Versuch der Emanzipierung von der geometrischen Veranschaulichung kann ja erst in einem späteren Stadium des mathematischen Unterrichtes Aussicht auf Erfolg haben.

Wie sich nun für die Strenge in der Behandlung des Stoffes durch praktische Rücksichten eine Grenze nach oben ergeben hat, so ergibt sich durch den Zweck des Buches auch eine Grenze nach unten. Viele Naturforscher studieren die höhere Mathematik nicht allein wegen ihrer naturwissenschaftlichen Anwendungen (die ja in manchen Gebieten derzeit noch nicht so ausgedehnt sind, daß sich ihretwegen allein das Studium der Mathematik lohnen würde); der Naturforscher und der Naturphilosoph erhofft sich aus der Beschäftigung mit der höheren Mathematik eine gewisse geistige Schulung, eine Verschärfung der Denkweise. Kann sich ja die Mathematik mit Recht rühmen, die exakteste der Wissenschaften zu sein, die die Voraussetzungen und den Geltungsbereich der durch sie aufgestellten Gesetze scharf abzugrenzen vermag. Aeußerlich kommt dies auch darin zum Vorschein, daß es in der mathematischen Literatur kaum eine Polemik im eigentlichen Sinne dieses Wortes gibt; ein mathematischer Satz kann entweder richtig oder falsch sein, ein Drittes gibt es nicht. Anders in den Naturwissenschaften; nimmt man irgendeine naturwissenschaftliche oder naturphilosophische Zeitschrift in die Hand, so wird man kaum in einer Nummer einen polemischen Artikel vermissen. Nun ist es da selbstverständlich durch den Gegenstand und die Methoden der Forschung bedingt, daß eine Polemik notwendig und meistens auch fruchtbar ist; trotzdem aber glaube ich nicht Unrecht zu haben, wenn ich behaupte, daß ein nicht unerheblicher Teil

dieser Polemik auf Mißverständnisse zurückzuführen ist, die davon herrühren, daß die Polemisierenden ihren Standpunkt nicht mit der erwünschten Klarheit präzisieren und daß daher mitunter unter einem und demselben Terminus verschiedene Forscher verschiedenes verstehen. So wird geistige Energie vergeudet, die zu Besserem verwendet werden könnte, wenn es die Naturforscher und Naturphilosophen von der Mathematik erlernen würden, ihre Behauptungen derart zu formulieren, daß kein Zweifel darüber möglich ist, was behauptet wird. — Daher, glaube ich, erweist man dem Naturforscher nur einen schlechten Dienst, wenn man in einem für ihn bestimmten Lehrbuche der Mathematik beispielsweise folgende Definition des Differentialquotienten bringt: „Wächst die unabhängige Variable x um Δx, so wächst die abhängige y um Δy; je kleiner das Δx genommen wird, um so kleiner wird auch Δy; wird schließlich das Δx unendlich klein (also gleich dem Differentiale dx), so wird auch Δy unendlich klein (also gleich dy), und das Verhältnis $\frac{dy}{dx}$ dieser unendlich kleinen Zuwächse nennt man den Differentialquotienten der Funktion.“ Die Verfasser solcher Definitionen erklären gewöhnlich auch gar nicht, was man unter einer „unendlich kleinen Größe“ verstehen soll, glauben also, daß das „Unendlich kleine“ unmittelbar durch die Anschauung gegeben ist. Was wird sich nun der Leser des betreffenden Buches unter einer „unendlich kleinen Größe“ vorstellen? Im gewöhnlichen Leben faßt man schon ein Haar als „unendlich dünn“ auf; der Naturforscher wird aber vielleicht erst das Atom, oder erst das Elektron als „unendlich klein“ gelten lassen wollen. Daß die „unendlich kleine Größe“ überhaupt nur als eine variable Größe aufgefaßt werden kann, wird dem Leser kaum einfallen, denn es hindert ihn daran das Wort „schließlich“; man kann ja nicht immer kleiner und kleiner werden, bis man schließlich etwas Variables geworden ist. — Wenn schon die derart eingeführte „unendlich kleine Größe“ an Klarheit zu wünschen übrig läßt, so gilt dies dann noch um so mehr für den Begriff des Differentialquotienten. Manche Leser werden durch diese Darstellung zur Auffassung verleitet, die höhere Mathematik wäre überhaupt nur eine Approximationsrechnung. — Man wende nicht ein, daß man auch auf Grund der so vagen Definition des Differentialquotienten das Differentieren und Integrieren erlernen kann. Erstens kommt es ja nicht allein auf das rein Mechanische dieses Verfahrens an und man muß einen gewissen Wert darauf legen, daß wenigstens die Grundbegriffe der Differential- und Integralrechnung in einer einwandfreien, dem heutigen Stande der Wissenschaft entsprechenden Weise erklärt werden; zweitens aber ist es durchaus nicht ausgeschlossen, daß sich die unstrenge Definition des Differentialquotienten bei naturwissenschaftlichen Anwendungen rächt und direkt zu sachlichen Fehlern verleitet.

Diese Erwägungen haben mich dazu bewogen, den Begriff des Differentialquotienten — unter Wahrung des elementaren Charakters des Buches — auf dem strengen Begriffe des Grenzwertes einer Zahlenfolge zu fundieren.

Die Regeln über die Differentiation einer Summe, eines Produktes, eines Quotienten, — usw. von Funktionen führe ich auf die entsprechenden Sätze über die Grenzwerte von Zahlenfolgen zurück. Diese Sätze führe ich allerdings — da ich ja von den ε-Methoden absehen mußte — ohne Beweis an, deute aber auch gar nicht an, daß sie eines Beweises bedürftig sind; man lasse keine Bedenken

aufkommen, wenn man nicht auch imstande ist, sie gleich zu beseitigen. Ich glaube, daß dem Leser kein Schaden erwachsen wird, wenn man ihm Sätze, deren Richtigkeit er intuitiv erkennt, auch ohne Beweise bringt. Der Beweis wäre für ihn weniger überzeugend als die intuitive Erkenntnis.

Soviel über die Art der Behandlung des Stoffes und nun noch einige Worte über die Auswahl desselben. — Den Naturforscher wird es am meisten interessieren, worin das Wesen der mathematischen Behandlung der naturwissenschaftlichen Probleme liegt. Diese Fragen werden im XII. und XIII. Kapitel des ersten Teiles behandelt. Der dort entwickelte Gedankengang ist folgender. Die Naturgesetze finden ihren Ausdruck in Differentialgleichungen; einer direkten experimentellen Prüfung sind aber nur endliche Gleichungen zugänglich. Will man daher ein hypothetisch aufgestelltes Naturgesetz auf seine Richtigkeit prüfen, so hat man die das Gesetz zum Ausdruck bringende Differentialgleichung zu integrieren und das Integral mit der Erfahrung zu vergleichen. Diese Kapitel über die mathematische Methode in den Naturwissenschaften bilden den Mittelpunkt des Buches, um das sich alles Vorhergehende als Einleitung, alles Folgende als Programmausführung gruppiert. Beispiele aus der Physik, Chemie, Physiologie, Serologie sollen zeigen, wie die Anwendung der mathematischen Methode in konkretem Falle geschieht; sie sind so gewählt und durchgeführt, daß Vorkenntnisse aus den betreffenden Disziplinen nicht vorausgesetzt werden.

Dem im folgenden abgedruckten Inhaltsverzeichnis und den Illustrationsproben bitte ich freundlichst Beachtung zu schenken.

Zu gefl. Bestellungen auf das Werk benutze man den beigegebenen Bestellzettel und übergebe ihn derjenigen Buchhandlung, durch welche die Zusendung gewünscht wird.

Gustav Fischer.

Inhaltsübersicht.

Erster Teil. Differentialrechnung.

I. Begriff des Grenzwertes einer unendlichen Zahlenfolge.

Seite 1

Beispiele für unendliche Zahlenfolgen. — Der Kreis als Grenzfigur einer unendlichen Folge von Polygonen. — Das Paradoxon von Zeno. — Die Tangente als Grenzlage einer unendlichen Folge von Sekanten. — Konvergente und divergente Zahlenfolgen. — Numerische Beispiele für unendliche Zahlenfolgen. — Definition des Grenzwertes einer unendlichen Zahlenfolge. . . . 3—14

II. Begriff der Funktion und der Ableitung einer Funktion.

Definition der „Funktion". — Beispiele für Funktionen und graphische Darstellung derselben. — Mittlere Terrainsteigung und der Differenzenquotient. — Die Steigung schlechthin und die Ableitung. — Definition der Ableitung einer Funktion. — Positive, negative, verschwindende Ableitung. — Die Beziehung $f'(x) = \operatorname{tg} \alpha$. — Primitive und abgeleitete Funktion. . . . 15—26

III. Naturwissenschaftliche Beispiele für Ableitungen von Funktionen.

Die Geschwindigkeit eines Massenpunktes. — Die Reaktionsgeschwindigkeit. — Die Empfindlichkeit von Meßinstrumenten. — Das Temperaturgefälle. — Die Konzentration einer Salzlösung. . . . . 27—32

IV. Aufgabe der Differentialrechnung.

Verschiedene Bezeichnungen und Schreibweisen der Ableitung. — Die Ableitung einer quadratischen Funktion. — Die Ableitung einer linearen Funktion. — Die Ableitung einer Konstanten. — Ganze und gebrochene rationale Funktionen. — Algebraische und transzendente Funktionen. Trigonometrische Funktionen. — Stetigkeit und Unstetigkeit. „Sprung" und „Knick". — Eine Eigenschaft der stetigen Funktionen. . . . . 33—43

V. Differentiation der rationalen und trigonometrischen Funktionen.

Vier Sätze aus der Lehre von den Grenzwerten von Zahlenfolgen. — Differentiation einer Summe von Funktionen. — Differentiation eines Produktes von Funktionen. — Die Formel $\frac{d}{dx} x^n = n \cdot x^{n-1}$. Differentiation einer ganzen rationalen Funktion. — Uebungen. Der binomische Lehrsatz. — Differentiation eines Quotienten von Funktionen. — Uebungen. Die Geschwindigkeit einer bimolekularen Reaktion. — Differentiation der trigonometrischen Funktionen. — Graphische Darstellung der trigonometrischen Funktionen. — Uebungen. — Differentiation einer Funktion von einer Funktion. — Uebungen. Harmonische Bewegung. . . . . 44—68

VI. Inverse Funktionen. Differentiation derselben.

Umkehrung einer Funktion. — Differentiation einer inversen Funktion. — Uebungen. Die Geschwindigkeit einer trimolekularen Reaktion. — Die zyklometrischen Funktionen. — Uebungen. — Parameterdarstellung von Funktionen. — Uebungen. Elliptische Schwingung. . . . . 69—85

VII. Höhere Ableitungen.

Definition der höhenen Ableitungen. — Die Beschleunigung als zweite Ableitung des Weges nach der Zeit. — Uebungen. Der freie Fall. Die Zentrifugalkraft. Die „Zentritaxis" niederer Organismen. — Konkavität, Konvexität, Wendepunkte. — Uebungen. — Die Krümmung einer Kurve. — Uebungen. . . . . 86—97

VIII. Maxima und Minima.

Absolute und relative Maxima und Minima. — Hinreichende Bedingungen für ein absolutes Extrem. — Beispiele. Maximale Arbeitsleistung eines Muskels. Oekonomie der Bienenzellen. . . . . 98—114

Seite

IX. Der natürliche Logarithmus und die Exponentialfunktion.

Drei weitere Sätze aus der Lehre von den Grenzwerten von Zahlenfolgen. — Die Verzinsung einer Krone bei kontinuierlicher Kapitalisierung. Die Zahl e. — Definition des Logarithmus. — Der natürliche Logarithmus und seine Ableitung. — Uebungen. — Die Exponentialfunktion und ihre Ableitung. — Uebungen. Die Kettenlinie. Die Zerfallsgeschwindigkeit radioaktiver Emanationen. Das Druckgefälle in der Atmosphäre. . . . 115—130

X. Partielle Ableitungen.

Definition der partiellen Ableitungen. — Uebungen. Das Wien'sche Verschiebungsgesetz; die Temperatur der Sonne. Der erste Hauptsatz der Thermodynamik und seine Anwendungen. . . . . 131—139

XI. Der Mittelwertsatz und seine Anwendungen.

Der Satz von Rolle. — Der Mittelwertsatz von Lagrange. — Der Fundamentalsatz der Integralrechnung. — Der erste Satz von L'Hospital. — Uebungen. — „Unendlich kleine" Größen. — Uebungen. — Der zweite Satz von L'Hospital. — Uebungen. — $\frac{\partial^2 z}{\partial x\,\partial y} = \frac{\partial^2 z}{\partial x\,\partial y}$. — Der Mittelwertsatz für Funktionen von zwei Veränderlichen. — Polarkoordinaten. Die Archimedische Spirale. Die hyperbolische Spirale. — Implizite Funktionen und Differentiation derselben. — Uebungen. . . . . 140—154

XII. Einfach unendliche Kurvenscharen. Gewöhnliche Differentialgleichungen erster Ordnung.

Die Parabelnschar $y = Cx^2$ und ihre Differentialgleichung. — Die Hyperbelnschar $y = \frac{C}{x}$ und ihre Differentialgleichung. Die Isothermen eines idealen Gases. — Die Zerfallskurven der radioaktiven Substanzen und die zugehörige Differentialgleichung. — Die Kreisschar $x^2 + y^2 = C^2$ und ihre Differentialgleichung. — Uebungen. Das psychophysische Gesetz von Fechner. — Allgemeines und partikuläres Integral einer Differentialgleichung. — Beispiele. Anstieg der Radiumemanation. Galileis ursprüngliche Hypothese über den freien Fall. Das Coulomb'sche Zerstreuungsgesetz der Elektrizität. — Uebungen. Die „Schleppkurve". . . . . 155—176

XIII. Mathematische Behandlung naturwissenschaftlicher Probleme.

Fünf Phasen im typischen Falle der mathematischen Behandlung eines naturwissenschaftlichen Problems. — Das chemische Massenwirkungsgesetz. — Monomolekulare Reaktionen. Rohrzuckerinversion. Abschwächung von Vibriolysin. — Bimolekulare Reaktionen. Verseifung der Ester. Zersetzung von Tetanolysin durch Pepton. . . . . 177—186

Zweiter Teil. Integralrechnung.

I. Die Grundformeln der Integralrechnung.

Aufgabe der Integralrechnung. — Der Fundamentalsatz der Integralrechnung. — Die Grundformeln der Integralrechnung. — Zwei Integrationsregeln. — Uebungen. . . . . 189—194

II. Die Technik des Integrierens.

Der Begriff des „Differentials". — Die Substitutionsmethode. — Uebungen. — Die Methode der teilweisen Integration. — Uebungen. — 195—206

III. Integration mittels Partialbruchzerlegung.

Zerlegung einer ganzen rationalen Funktion in ein Produkt linearer Faktoren. — Zerlegung einer gebrochenen rationalen Funktion in eine Summe von Partialbrüchen. — Integration einer gebrochenen rationalen Funktion zweiten Grades. — Uebungen. . . . . 207—213

IV. Trennung der Variablen.

Methode der Trennung der Variablen. — Uebungen. Monomolekulare Reaktionen. Fall eines Körpers in einem reibenden Medium. Bimolekulare Reaktionen. Trimolekulare Reaktionen. Katalyse. Adiabatische Kompression eines Gases. . . . . 214—225

Seite

V. Vollständige Differentiale.

Integration der Differentialgleichung $udx+vdy=0$, wenn $udx+vdy$ ein vollständiges Differential ist. — Uebungen. „Unvollständiges Differential". Integrierender Faktor. . . . . 226—231

VI. Gewöhnliche Differentialgleichungen zweiter Ordnung.

Die Differentialgleichung der Geradenschar $y=C_1+C_2x$. — Die Differentialgleichung der Kreisschar $(x-C_1)^2+(y-C_2)^2=r^2$. — Die Differentialgleichung der Kettenlinienschar $y=\frac{C_1}{2}\left(e^{\frac{x-C_2}{C_1}}+e^{-\frac{x-C_2}{C_1}}\right)$. — Geometrische Deutung einer Differentialgleichung zweiter Ordnung. — Uebungen. — Beispiele für die Integration von Differentialgleichungen zweiter Ordnung. Ungedämpfte Schwingungen. Gedämpfte Schwingungen. Die durch die Volumelastizität eines Gases ausgelösten Schwingungen. Stationäre Diffusion einer radioaktiven Emanation durch eine Flüssigkeit. Innere Reibung. . . . . 232—253

VII. Bestimmte Integrale.

Definition eines bestimmten Integrals. — Zwei Sätze über bestimmte Integrale. — Uebungen. — Die „Integrationsvariable". Die Ableitungen des bestimmten Integrals nach seinen Grenzen. — Der Inhalt von Flächenstücken, die durch Kurven begrenzt sind. — Uebungen. — Die Menge eines Salzes als Integral über die Konzentration. — Uebungen. Die barometrische Höhenformel. — Die Bogenlänge. — Uebungen. Die „Hundekurve". — Das bestimmte Integral als Grenzwert einer Summe. — Uebungen. Das Poiseuille'sche Gesetz. — Das Volumen eines Rotationskörpers. — Uebungen. . . . . 254—274

VIII. Der zweite Hauptsatz der Thermodynamik.

Der erste Hauptsatz. — Zwei Erfahrungssätze. — Das perpetuum mobile zweiter Art. — Der zweite Hauptsatz der Thermodynamik. Die Entropie. — Zwei Bedingungen der Reversibilität. — Die Arbeitsleistung eines Gases. — Uebungen. — Das „Differential dQ". — Die Entropie eines idealen Gases. — Die Entropie eines aus idealen Gasen bestehenden Systems. — Beweis des Entropiesatzes für ideale Gase. — Der Entropiesatz als Kriterium für die Reversibilität. — Der Carnot'sche Satz. — Carnot'sche Kreisprozesse. — Beweis des Carnot'schen Satzes. — Ist der menschliche Körper eine Wärmekraftmaschine? — „Positive" und „negative" Energieumwandlungen. — Die Entropie eines beliebigen Körpersystems. — Der allgemeine Entropiesatz . . . . . 275—299

Anhang.

Taylor'sche Reihenentwicklungen.

Die Taylor'sche Reihe für eine ganze rationale Funktion. — Die Taylor'sche Reihe für $f(x)=\frac{1}{1-x}$. — Das Restglied der Taylor'schen Reihe. — Eine hinreichende Bedingung für die Darstellbarkeit einer Funktion durch eine Taylor'sche Reihe. — Uebungen. Die Taylor'sche Reihe für $\sin x$, $\cos x$, e^x, $\ln x$. Die Differenz $\Delta y-dy$. — Vervollständigung der Theorie der Maxima und Minima. — Theorie der Wendepunkte. — Analytische und nicht-analytische Funktionen . . . . . 303—317

Stetige und unstetige Funktionen.

Die unstetigen Funktionen in der mathematischen Physik. — Abgeschlossenes und nicht-abgeschlossenes Intervall. — Beispiele für Funktionen, die in einem nicht-abgeschlossenen Intervalle definiert sind. Die Thermodynamische Temperaturskala. — Beispiele für Funktionen, die in einzelnen Punkten nicht definiert sind. — Definition der Stetigkeit. — Vier Typen von unstetigen Funktionen und Beispiele hierfür. — Die Funktion $f(x)=\sin\frac{1}{x}$. — Funktionen, die nirgends stetig sind . . . . . 318—333

Proben aus dem Text.

Es soll eine Pyramide gebaut werden, deren Stufen aus lauter Würfeln bestehen. Die Kantenlänge des ersten (untersten) sei 10 m, die des zweiten 5 m, die des dritten $\frac{5}{2}$ m, usw.; m. a. W. es soll die Kantenlänge eines jeden Würfels genau die Hälfte der Kantenlänge des vorhergehenden betragen. Schreiben wir die Kantenlängen der einzelnen Würfel nacheinander der Reihe nach auf, so erhalten wir eine endlose Folge von Zahlen:

$$10,\ 10\cdot\tfrac{1}{2},\ 10\cdot\frac{1}{2^2},\ 10\cdot\frac{1}{2^3},\ 10\cdot\frac{1}{2^4},\ 10\cdot\frac{1}{2^5},\ \ldots$$

eine **„unendliche Zahlenfolge“.***) Die Zahlen dieser Zahlenfolge werden immer kleiner und kleiner und nähern sich unbegrenzt der Null; wir sagen: Null ist der **Grenzwert** der Zahlfolge: 10, $\frac{10}{2}$, $\frac{10}{4}$, $\frac{10}{8}$, $\frac{10}{16}$, $\frac{10}{32}$, . . .

Wodurch ist hier der Grenzwert der Zahlenfolge charakterisiert? Man wäre geneigt zu sagen: Die Stufen der Pyramide werden immer kleiner und kleiner und die „letzte“ Stufe schrumpft schließlich auf einen „Punkt“ zusammen; die Dimensionen eines Punktes sind Null; Null ist der Grenzwert unserer Zahlenfolge; der Grenzwert wäre somit die „letzte“ Zahl in der Zahlenfolge. Allein, man bedenke, daß das Wort „letztes Glied“ einer endlosen Folge keinen rechten Sinn hat; denn was endlos ist, hat eben kein Ende, besitzt somit auch kein letztes Element. Es wäre wohl Geschmacksache in unserem Falle die Zahl Null, den Grenzwert der Zahlenfolge, als „letztes“ Glied der Folge — par definition — anzusehen, also das Wort „letzt“ im übertragenen Sinne zu gebrauchen; jedoch hat sich dies als durchaus unzweckmäßig erwiesen. In der Tat, würde man die Bezeichnung des Grenzwertes einer Zahlenfolge als „letztes“ Element derselben zulassen, so wäre man in Verlegenheit, wenn man nach dem „vorletzten“ Gliede fragen würde. Spricht man nämlich von einem „letzten“ Elemente, so ist man auch berechtigt, die Frage nach dem „vorletzten“ aufzuwerfen. Ist die „letzte“ Stufe unserer Pyramide ein Punkt, wie groß ist die vorletzte Stufe? Der Leser wäre vielleicht geneigt zu antworten: die Stufe, die bloß „eine Idee“, eine „Haarbreite“ dick ist, ist die „vorletzte“ Stufe. Jedoch ist die Breite einer „Idee“ nicht meßbar; die Haarbreite ist wohl meßbar, hat aber eine endliche, bestimmbare Größe. Beträgt etwa die Breite eines Haares $\frac{1}{100}$ mm, so wird es in unserer Pyramide Stufen geben, deren Dimensionen kleiner sind als $\frac{1}{100}$ mm, ohne jedoch Null zu sein; z. B. beträgt die Kantenlänge des 20ten Würfels $\frac{10}{2^{20}}$ m $= 0{,}0095$ mm; die zwanzigste Stufe ist also dünner als ein Haar, größer aber als Null.**) — Würde man also — durch Festsetzung — zugeben, daß eine unendliche Zahlenfolge eine „letzte Zahl“ besitzt, so wäre es dennoch unmöglich eine „vorletzte“ anzugeben; denn welches Glied der Zahlenfolge man auch immer herausgreifen würde, es wären stets noch zwischen diesem und dem „letzten“ Gliede andere Glieder der Zahlen-

*) Wohlgemerkt sind die Zahlen einer Zahlenfolge nicht zueinander addiert, sondern bloß nacheinander aufgeschrieben; sie sind durch Beistriche voneinander getrennt (und nicht durch „+“-Zeichen miteinander verbunden).

**) Wir sehen hierbei ganz davon ab, daß es technisch nicht möglich ist, so kleine Würfel herzustellen. Der Bau unserer Pyramide soll ja bloß ein Gedankenexperiment sein.

folge vorhanden. Daher ist man übereingekommen, von der Einführung des Begriffes „letztes“ Glied ganz abzusehen.

Was ist also unter dem Grenzwerte einer Zahlenfolge zu verstehen? Der Grenzwert einer Zahlenfolge ist eine Zahl, die zwar nicht als ein „letztes“ Element derselben anzusehen ist, die also selbst der Zahlenfolge nicht angehört, die aber die Eigenschaft besitzt, daß ihr die Zahlen der Folge so nahe kommen, als wir nur immer wollen. In unserer Pyramide gibt es also keine Stufe, deren Dimensionen Null wären, die also auf einen Punkt zusammengeschrumpft wäre; wohl aber ist der „Punkt“ (die Dimension Null) der Grenzwert der Stufen, dem dieselben unbegrenzt zustreben, ohne ihn jedoch je zu erreichen.

---

5. Beispiel. Bekanntlich haben die Sophisten die Möglichkeit alles Unmöglichen und die Unmöglichkeit alles Möglichen gelehrt. So behauptete z. B. Zeno, es wäre unmöglich, daß Achilles eine Schildkröte einhole, trotzdem Achilles bedeutend schneller läuft als die Schildkröte. Diese kühne Behauptung begründete er folgendermaßen: Sei A der ursprüngliche Standpunkt des Achilles, S_1 derjenige der Schildkröte und sei etwa die Distanz $AS_1 = 100$ m (Fig. 5). Die Geschwindigkeit des Achilles sei 10 mal so groß wie

Fig. 5.

diejenige der Schildkröte. Um die Schildkröte einzuholen, wird Achilles jedenfalls zunächst den Punkt S_1 erreichen müssen; im Momente aber, wo Achilles den Punkt S_1 erreicht haben wird, wird sich die Schildkröte in einem anderen Punkte S_2 befinden, u. zw. wird $S_1S_2 = \frac{1}{10} \cdot AS_1$. Von S_1 wird daher Achilles auf den Punkt S_2 loslaufen, aber im Momente, wo er in S_2 sich befinden wird, wird die Schildkröte bereits weiter sein, u. zw. im Punkte S_3, wo $S_2S_3 = \frac{1}{10} \cdot S_1S_2$; erreicht Achilles den Punkt S_3, so hat die Schildkröte bereits den Punkt S_4 erreicht, wo wiederum $S_3S_4 = \frac{1}{10} \cdot S_2S_3$, usw. Diese Ueberlegungen können ins Unendliche fortgesetzt werden; wie oft Achilles den letzten Standpunkt der Schildkröte erreicht haben wird, wird bereits die Schildkröte weiter vorn sein; Achilles wird somit nie die Schildkröte einholen. Wie „sophistisch“ auch diese Schlußfolgerung erscheinen mag, so enthält sie doch einen richtigen Kern. Wir behaupten zwar nicht mit Zeno, daß Achilles die Schildkröte nie einholen wird, werden aber sehen, daß das Paradoxe dieser Behauptung in der Eigentümlichkeit des Begriffes des Grenzwertes seine Rechtfertigung findet.

---

2. Beispiel. Die älteste Erfahrung auf dem Gebiete der Mechanik ist wohl die, daß ein in der Luft losgelassener Körper zur Erde hinunterfällt. Der Anfang zu einer wissenschaftlichen Mechanik ist aber erst im Momente gemacht worden, wo die Frage gestellt wurde: nach welchem Gesetze fällt ein losgelassener Körper, oder — modern ausgedrückt — was für eine Funktion der Zeit ist der durch den

Körper vom Momente des Loslassens an zurückgelegte Weg? Diese Frage beantwortet zu haben, ist das große Verdienst Galilei's.

Galilei hat ursprünglich angenommen, daß die Geschwindigkeit eines fallenden Körpers, die doch offenbar während des Fallens wächst, direkt porportional dem durch den Körper bereits zurückgelegten Wege wäre, m. a. W. bezeichnet man die Geschwindigkeit des Körpers nach dem zurückgelegten ersten Meter mit v_1, nach dem zweiten — mit v_2, nach dem dritten — mit v_3, usw., so verhielten sich $v_1 : v_2 : v_3 : v_4 : \ldots$ wie $1 : 2 : 3 : 4 : \ldots$

Wäre Galilei die Differential- und Integralrechnung geläufig gewesen, so hätte er diese Annahme nicht ernstlich in Erwägung gezogen. Schauen wir nämlich zu, welche Gestalt diese Hypothese annimmt, wenn man sie in die Sprache der Mathematik übersetzt. Ist s der durch den Körper zurückgelegte Weg und t die Zeit, so wird die Geschwindigkeit des Körpers durch den Differentialquotienten von s nach t definiert. Sei λ ein Proportionalitätsfaktor, so lautet die Galilei'sche Annahme:

$$\frac{ds}{dt} = \lambda s \qquad \ldots (1)$$

Dies ist eine gewöhnliche Differentialgleichung erster Ordnung für s als Funktion von t. Ihre Integration liefert als allgemeine Lösung die Funktion:

$$s = C \cdot e^{\lambda t} \qquad \ldots (2)$$

Man überzeugt sich leicht hiervon, indem man (2) nach t differentiiert:

$$\frac{ds}{dt} = C \cdot \lambda e^{\lambda t} \qquad \ldots (3)$$

durch Elimination von C aus (2) und (3) geht in der Tat (1) hervor. — Um nun den für uns in Betracht kommenden Wert der willkürlichen Konstanten C zu ermitteln, bemerken wir, daß zur Zeit $t = 0$ auch $s = 0$ war. Wir setzen daher in (2) $s = 0$ und $t = 0$, woraus sich ergibt:

$$C = 0 \qquad \ldots (4)$$

Daher ist

$$s = 0 \cdot e^{\lambda t} = 0 \qquad \ldots (5)$$

dasjenige partikuläre Integral von (1), welches für $t = 0$ den Wert Null annimmt. Nun sagt aber (5) aus, daß der Weg s für alle Zeiten gleich Null bleibt, d. h. der in der Luft losgelassene Körper bleibt in der Luft stecken, was ja offenbar einer Jahrtausende alten Erfahrung widerspricht. Eine für den ersten Augenschein ganz vernünftige Hypothese führt also — mathematisch diskutiert — zu einem Absurdum.

Wir sind nunmehr in der Lage zu zeigen, worin die Anwendung der mathematischen Methode in den Naturwissenschaften im wesentlichen besteht. Im typischen Falle der mathematischen Behandlung eines naturwissenschaftlichen Problems kann man stets folgende Phasen unterscheiden:

1. Eine naturwissenschaftliche (physikalische, chemische, biologische usw.) Größe wird als Ableitung einer Funktion definiert, z. B. die Geschwindigkeit eines Massenpunktes als Ableitung des Weges nach der Zeit, die Geschwindigkeit einer chemischen Reaktion als Ableitung der umgesetzten Menge der Reagentien nach der Zeit usw.

2. Ueber einen gewissen Naturvorgang wird eine Hypothese aufgestellt, in der die betreffende Größe eine Rolle spielt. Wird dann die Hypothese in die Sprache der Mathematik übersetzt, so findet sie ihren Ausdruck in einer Gleichung, in der ein Differentialquotient vorkommt, folglich in einer Differentialgleichung. Der Sachverhalt, den eine derartige Hypothese ausspricht, ist einer direkten experimentellen Verifikation in der Regel unzugänglich. Man kann sie daher nur auf diese Weise prüfen, daß man aus ihr verschiedene Konsequenzen zieht und dieselben mit der Erfahrung vergleicht.

3. Dies geschieht im Wege der Integration der Differentialgleichung, durch welche die betreffende Hypothese zum Ausdruck gebracht wird. Dies ist die Sache des Mathematikers.

4. Sodann verschafft sich der Naturforscher Klarheit über die Bedeutung der im Integrale der Differentialgleichung vorkommenden willkürlichen Konstanten, bzw. bestimmt sie so, daß das Integral einem konkreten, der Beobachtung unterworfenen Naturvorgange angepaßt wird.

5. Das so gewonnene partikuläre Integral wird mit den Beobachtungsdaten verglichen. Findet Uebereinstimmung statt, so spricht die Beobachtung für die Hypothese; im Falle der Nichtübereinstimmung sind noch die möglichen Versuchsfehler in Betracht zu ziehen.

Wir wollen für diese Art der Behandlung naturwissenschaftlicher Probleme einige Beispiele der chemischen Kinetik entnehmen. Hierzu ist es notwendig zunächst die Grundlagen derselben kurz zu skizzieren.

Ein Beispiel für eine Reaktion, die in Wirklichkeit fünfmolekular ist, die aber so verläuft, als ob es sich um eine bimolekulare handeln würde, bildet die Zersetzung von Tetanolysin durch Pepton,*) die durch Madsen und Walbum studiert worden ist. Erwärmt man ein Gemisch von Tetanolysin und Pepton auf 36° C, bringt dasselbe in ein Wasserbad von derselben Temperatur und bestimmt seine hämolytische Kraft zu verschiedenen Zeiten, so stellt sich heraus, daß dieselbe mit der Zeit abnimmt. Eine quantitative Untersuchung des zeitlichen Verlaufes dieses Prozesses und seiner Abhängigkeit von der ursprünglichen Konzentration des Pepton läßt den Schluß zu, daß es sich um eine chemische Reaktion handelt, die nach dem Schema verläuft: Zwei Tetanolysinmoleküle + Drei Peptonmoleküle = Lysinpeptonverbindung. Bezeichnet man mit C_T die jeweilige Konzentration des Lysins in der Lösung, mit C_P diejenige des Peptons, so ergibt die Anwendung des Massenwirkungsgesetzes für diese Reaktion:

$$\text{Reaktionsgeschwindigkeit} = k \cdot (C_T)^2 \cdot (C_P)^3 \quad \ldots (21)$$

Nun ist aber die Lysinpeptonverbindung sehr unstabil und zersetzt sich sehr rasch unter Zerstörung des Tetanolysins und Rückbildung des Peptons. Infolgedessen bleibt die Konzentration des Peptons im Verlaufe der Reaktion merklich konstant und man kann das Produkt $k(C_P)^3$ in eine neue Konstante K vereinigen:

$$K = k \cdot (C_P)^3 \quad \ldots (22)$$

Bezeichnet man mit a die ursprüngliche und mit x die zur Zeit

*) Sv. Arrhenius, Immunochemie S. 61.

bereits zersetzte Lysinmenge (pro 1 ccm der Lösung), so ist $C_T = a - x$ und (21) ergibt die Differentialgleichung:

$$\frac{dx}{dt} = K \cdot (a - x)^2 \quad \ldots \quad (23)$$

Sie ist genau von der Form der Differentialgleichung (14), nur ist an Stelle des k das K getreten.

---

7. Uebung. Der menschliche (oder tierische) Organismus stellt während der Verrichtung einer mechanischen Arbeit eine Maschine dar, welche die ihm in Gestalt von Nahrungsmitteln zugeführte chemische Energie in mechanische (Bewegungsenergie) umsetzt. Erfahrungsgemäß tritt im Organismus während der Verrichtung einer mechanischen Arbeit Wärme auf, deren Menge (pro Zeiteinheit) kalorimetrisch bestimmt werden kann. Worin auch immer der Vorgang der Umwandlung von chemischer Energie in Bewegungsenergie im menschlichen Körper bestehen mag, die während der Arbeit entwickelte Wärme ist als ein Verlust an Energie anzusehen, ganz analog, wie bei einer Dampfmaschine die an den Kondensator abgegebene Wärme. Nennen wir diese Wärmemenge Q_2 und die durch den Organismus (in derselben Zeit) geleistete Arbeit W, so ist die während dieser Arbeitsleistung verbrauchte chemische Energie nach dem Prinzip der Erhaltung der Energie gleich $W + Q_2$; den Quotienten $\frac{W}{W + Q_2}$ nennt man auch hier den ökonomischen Koeffizienten des Organismus. Nach Messungen von Marcet und Floris*) schwankt derselbe für den Menschen zwischen 0·17 und 0·19.

Auf welche Weise geschieht nun im menschlichen Körper die Umwandlung chemischer Energie in mechanische? Am naheliegendsten wäre es anzunehmen, daß der in den Nahrungsmitteln enthaltene Kohlenstoff im menschlichen Körper verbrannt wird und daß sich diese Verbrennungswärme (zum Teil) in Arbeit umwandelt. Der menschliche Körper wäre demnach in dieser Hinsicht als eine Wärmekraftmaschine aufzufassen, ähnlich wie die Dampfmaschine, mit dem Unterschied, daß bei der Dampfmaschine der Wasserdampf als Zwischenträger fungiert, während im menschlichen Körper eventuell die Muskelfasern als arbeitende Substanz anzusehen wären. Nach dem Carnot'schen Satze ist aber der ökonomische Koeffizient einer Wärmemaschine von der Natur der arbeitenden Substanz unabhängig, er müßte also für den menschlichen Körper ebenfalls gleich $\frac{T_2 - T_1}{T_2}$ sein, wenn T_2, T_1 die Temperaturen der beiden Wärmequellen bedeuten. Es fragt sich nun, was für Werte wären in unserem Falle den Temperaturen T_1, T_2 beizulegen. Der eine derselben wird gewiß die Normaltemperatur des menschlichen Körpers sein, also 37·5° C oder nach der absoluten Temperaturskala $273^0 + 37{\cdot}5^0 = 310{\cdot}5^0$; wie hoch ist die andere Temperatur, wenn für η der Wert 0·18 angenommen wird?

Lösung. Nehmen wir zunächst an, die Normaltemperatur 37·5°

*) L. Hermann, Physiologie, S. 675.

wäre die Temperatur der unteren Wärmequelle, dann ist $T_1 = 273 + 37{\cdot}5 = 310{\cdot}5$ zu setzen. Aus

$$\eta = \frac{T_2 - T_1}{T_2} \quad \ldots (1)$$

ergibt sich

$$T_2 = \frac{T_1}{1-\eta} = \frac{310{\cdot}5}{1-0{\cdot}18} = 378{\cdot}7 = 273 + 105{\cdot}7 \quad \ldots (2)$$

Nimmt man dagegen an, die Normaltemperatur wäre die Temperatur der oberen Wärmequelle, also $T_2 = 310{\cdot}5$, so ergibt sich aus (1) für die Temperatur der zweiten Wärmequelle

$$T_1 = T_2(1-\eta) = 310{\cdot}5 \cdot (1 - 0{\cdot}18) = 254{\cdot}6 = 273 - 18{\cdot}4 \quad \ldots (3)$$

Im ersten Falle müßte also die zweite Temperatur gleich $+ 105{\cdot}7^0$ C, im zweiten $- 18{\cdot}4^0$ C sein.*) Das Auftreten einer so hohen oder einer so tiefen Temperatur im menschlichen Körper erscheint aber von vornherein sehr unwahrscheinlich. Man kann daher den menschlichen (oder tierischen) Körper nicht als eine Wärmekraftmaschine auffassen; die Umwandlung chemischer Energie in Bewegungsenergie geschieht im menschlichen Körper vielleicht direkt, vielleicht auf elektrodynamischem Wege, jedenfalls aber nicht thermodynamisch.**)

---

*) In dieser Rechnung ist stillschweigend die Reversibilität der in Betracht kommenden Vorgänge vorausgesetzt worden. In Wirklichkeit sind aber diese Vorgänge gewiß irreversibel, daher $\eta < \frac{T_2 - T_1}{T_2}$ und im ersten Falle $T_2 > 105{\cdot}07^0$ C, im zweiten $T^1 < -18{\cdot}4^0$ C.

**) Gariel, Travail fourni par les animaux, Rendement des moteurs animés, in Weiss, Traité de Physique biologique, Paris, p. 1010—1011.

Bestellzettel.

An die Buchhandlung

.....

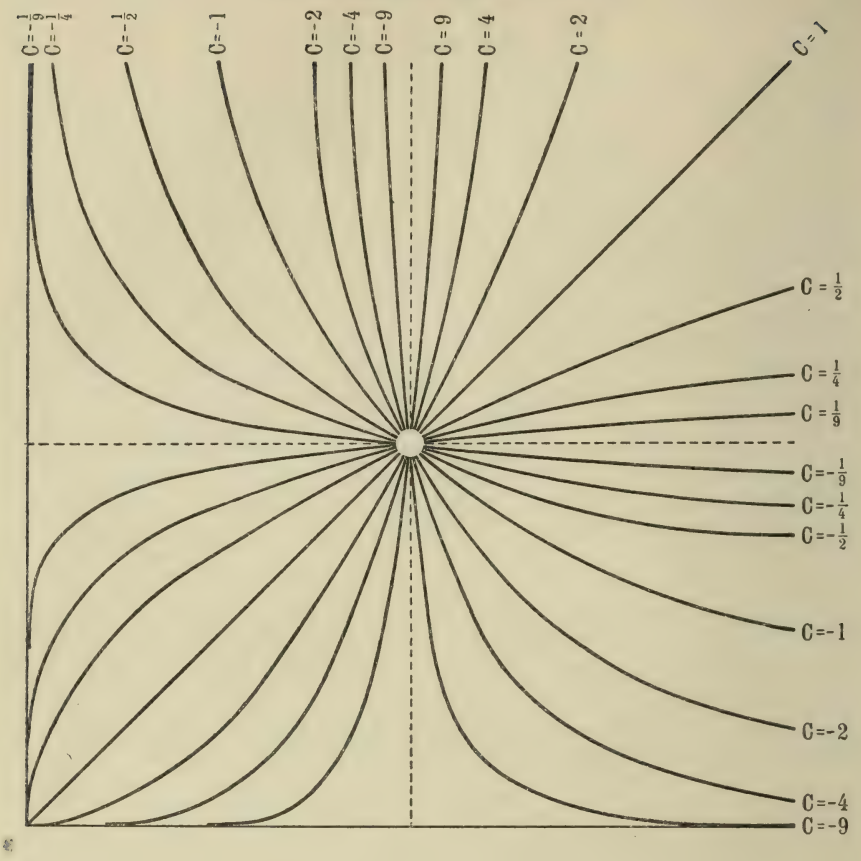
Aus dem Verlage von **Gustav Fischer** in **Jena** bestelle ich:

..... Expl. **Salpeter, J., Einführung in die höhere Mathematik für Naturforscher und Ärzte.** Preis: 12 Mark, geb. 13 Mark.

Ort und Tag: Name:

.....

Illustrationsproben.



Bücherzettel

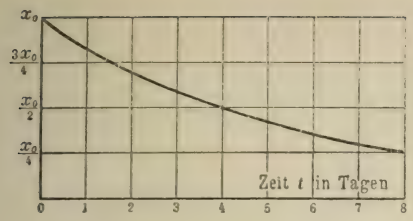
An

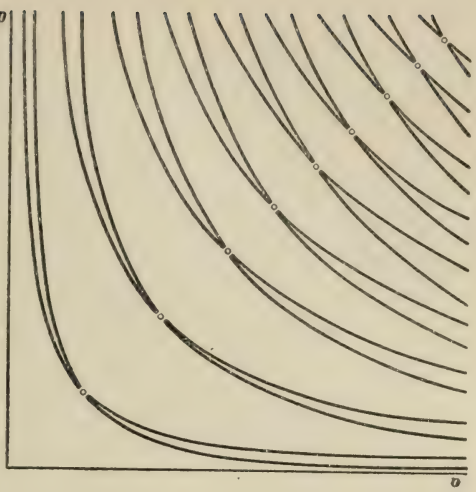
.....

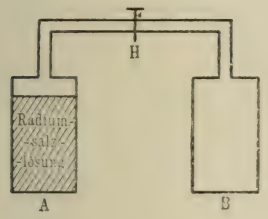
.....

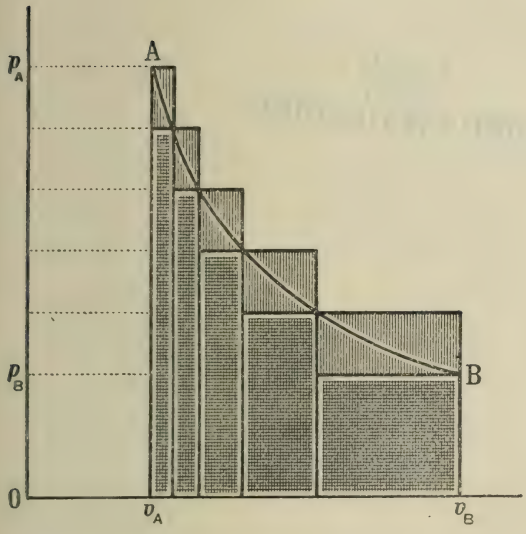
in .....

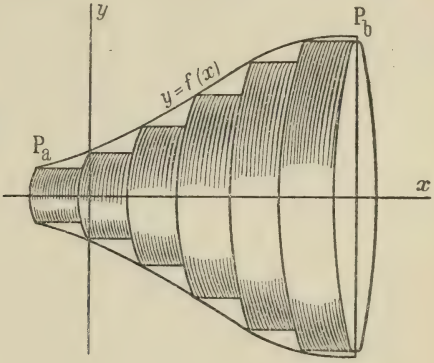
.....

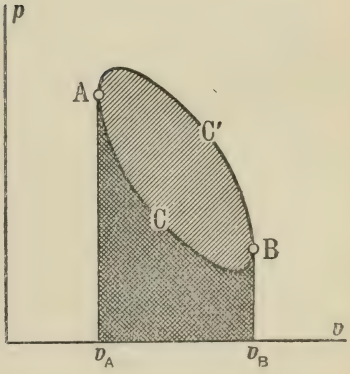

x_0
$\frac{3x_0}{4}$
$\frac{x_0}{2}$
$\frac{x_0}{4}$
Zeit t in Tagen
0 1 2 3 4 5 6 7 8

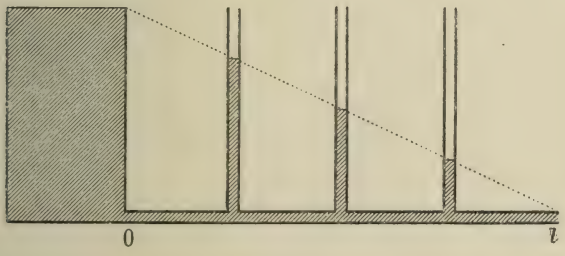

p
v

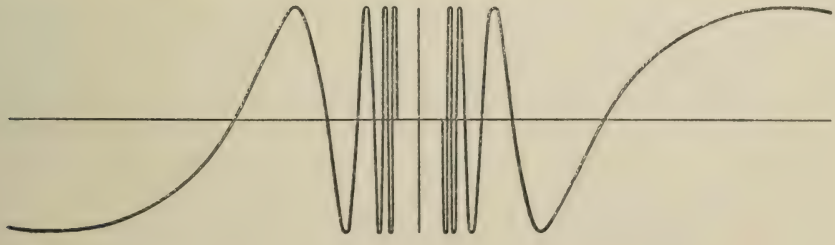

H
Radium-salz-lösung
A
B

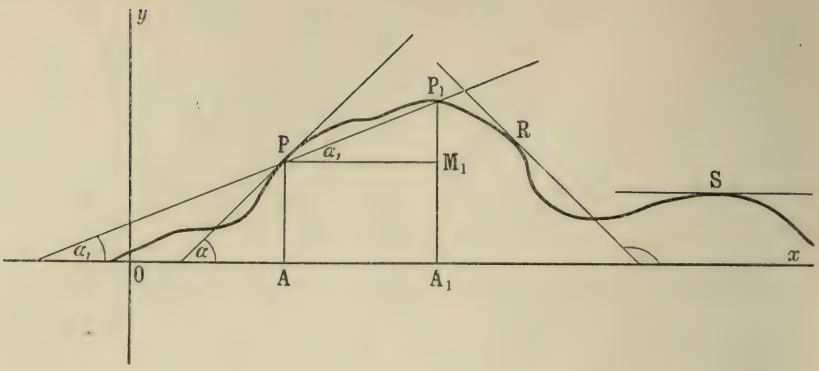

p_A
p_B
0
A
B
v_A
v_B

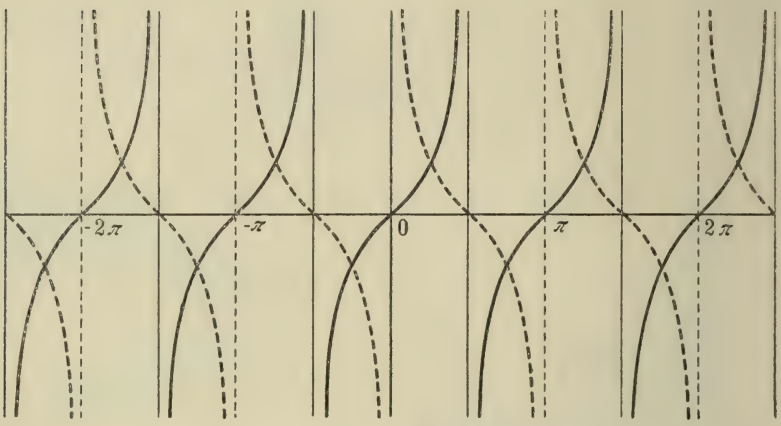

y
P_b
$y = f(x)$
P_a
x

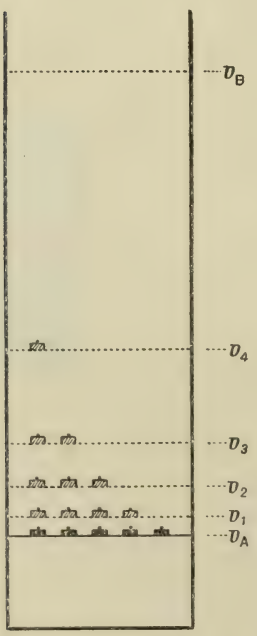

p
A
C'
C
B
v
v_A
v_B


0
l









G. Pätz'sche Buchdr. Lippert & Co. G. m. b. H., Naumburg a. d. S.

5. 13. 20.

halten verschiedener Typhusreinkulturen auf bestimmten Nährböden, auch wenn diese Stämme einheitlicher Provenienz und gleichen Laboratoriumsalters sind, unter diesem Gesichtswinkel weniger auffällig erscheint.

Wir glauben nicht, daß man uns den Einwand wird machen können, daß die Stämme, mit denen wir gearbeitet haben, nicht durchwegs typische Typhuskulturen sind, und daß wir deshalb ein so differentes Verhalten auf den einzelnen Nährlösungen beobachten konnten. Immerhin wollten wir uns auch durch die Agglutination mit einem hochwertigen Typhusimmunserum versichern, daß wir es ausnahmslos mit Typhuskulturen zu tun haben. Daneben drängte uns zu den nun zu beschreibenden Versuchsreihen der Umstand, daß trotz der zahlreichen in der Literatur niedergelegten Erfahrungen über die verschiedene Agglutinabilität verschiedener Stämme das Verhalten von Typhusstämmen einheitlicher Provenienz zu einem Typhusimmunserum noch nicht geprüft zu sein scheint.

Aus diesem Grunde haben wir unsere α- und 73-Stämme, aber auch unsere L- und N-Stämme mit einem hochwertigen Typhusimmun-Pferdeserum geprüft, das noch in einer Verdünnung von 0,0006 einen unserer alten Laboratoriumsstämme, der zu ähnlichen Zwecken gewöhnlich von uns verwendet wird, in 2 Stunden komplett agglutinierte.

Der Ausfall unserer Agglutinationsreihen, die sämtlich der Gleichmäßigkeit halber an einem Tage ausgeführt wurden, ist in nachstehender Tabelle 3 übersichtlich wiedegegeben, in der wir der Kürze halber nur die Serumverdünnungen von 0,001—0,0001 anführen.

Auch unter dem Einfluß eines agglutinierenden Immunserums verhalten sich unsere Stämme des Falles α und 73 nicht übereinstimmend und gleichmäßig; auch in ihrer Agglutinabilität zeigen sie manchmal recht weitgehende Differenzen, trotzdem die Provenienz unserer Stämme durchaus einheitlich ist. Im Einklang mit diesen Beobachtungen weisen aber auch die N- und L-Stämme keine gleichmäßige Agglutinabilität auf, so naheliegend auch die Vermutung gewesen wäre, daß die N- bzw. die L-Stämme, die ja durch Aufspaltung einer Reinkultur gewonnen wurden, sich in ihren haptophoren Gruppen gleichen. Man wird also ohne weiteres annehmen müssen, daß sich die einzelnen Keime einer Reinkultur und ihre Abkömmlinge auch in ihren agglutinatorischen Eigenschaften nicht durchaus gleich verhalten, daß ihre haptophoren Gruppen individuelle Differenzen aufweisen. Die Agglutinabilität scheint also auch bei den Keimen einer Reinkultur keine einheitliche Größe zu sein, sondern dürfte bei den einzelnen Bakterien und ihren Abkömmlingen eine individuelle Eigenschaft in ähnlicher Weise darstellen, wie wir das bei ihrem Verhalten zu bestimmten Zuckernährböden bereits kennen gelernt haben.

Auch Porges scheint schon analoge Tatsachen beobachtet zu haben. Porges und Prantschoff[1]) haben nämlich zeigen können, daß die partielle Agglutination gewisser Stämme mit einem Immunserum durch die Gegenwart zweier, in ihrer Agglutinabilität verschiedenen Bakterienvarietäten einer Reinkultur bedingt ist. Bei spontan agglutinierenden Kulturen, die auch nach dem Sedimentieren die überstehende Flüssigkeit leicht trübten, zeigte es sich, daß die aus der obenstehenden trüben

1) Dies. Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 41. p. 664.

Tabelle 3.

	0,001	0,0007	0,0005	0,0003	0,0001	Kontrolle
73 Galle β	+	+	+	—	—	—
Galle γ	+	+	+	+	±	—
Galle δ	±	±	±	±	±	—
Galle ε	+	+	+	+	±	—
Galle ϰ	+	+	±	±	—	—
Milz α	±	±	±	—	—	—
Milz β	+	±	—	—	—	—
Milz γ	+	+	+	+	±	—
Milz ε	±	±	±	±	—	—
Milz ϰ	±	±	—	—	—	—
Milz λ	±	±	±	±	—	—
Lunge α	±	±	±	±	±	—
Lunge β	±	±	±	±	—	—
Lunge γ	+	+	±	±	—	—
Leber α	+	+	+	+	+	—
Leber β	+	+	+	+	±	—
α Blut 1	±	—	—	—	—	—
Blut 2	±	±	±	—	—	—
Blut 3	±	±	±	—	—	—
Blut 4	+	+	+	+	+	—
Galle 1	±	±	±	—	—	—
Galle 2	±	±	±	±	—	—
Galle 3	+	+	±	±	±	—
Galle 4	+	+	+	+	±	—
Galle 5	±	±	±	—	—	—
Niere 1	+	+	+	±	±	—
Darm 2	+	+	+	+	±	—
Leber 1	+	+	+	+	±	—
Leber 2	+	+	+	±	±	—
Leber 3	±	±	±	—	—	—
L 1	±	±	±	±	±	—
L 2	±	±	±	—	—	—
L 3	+	+	+	+	±	—
L 4	+	+	±	±	±	—
L 5	+	+	+	±	±	—
L 6	±	±	±	±	—	—
L 7	±	±	±	±	—	—
L 8	+	+	+	+	±	—
L 9	±	±	±	±	—	—
L 10	+	+	±	±	—	—
L 11	±	±	±	±	—	—
L 12	+	±	±	±	±	—
N 1	+	±	±	—	—	—
N 2	±	±	—	—	—	—
N 3	+	+	+	+	±	—
N 4	+	+	±	±	—	—
N 5	+	+	+	±	±	—
N 6	±	±	±	—	—	—
N 7	+	+	+	+	+	—
N 8	+	+	+	+	±	—
N 9	+	+	+	+	±	—
N 10	±	±	±	±	±	—
N 11	±	±	±	—	—	—
N 12	±	±	±	—	—	—

Flüssigkeit kultivierten Stämme die Spontanagglutination eingebüßt hatten, während die Kultur aus dem Bodensatz der Ausgangskultur glich. In ähnlicher Weise konnten die genannten Autoren auch die Gegenwart einer schwerer und einer leichter agglutinablen Varietät in

partiell agglutinierenden Reinkulturen feststellen, und so die Beobachtung machen, daß die Keime einer Reinkultur in ihrem agglutinatorischen Verhalten sich durchaus nicht gleichsinnig verhalten.

Unsere Versuche zeigen also, daß Typhusstämme, die aus verschiedenen Organen einer Leiche herauskultiviert wurden, sich auf verschiedenen Zuckernährböden und einem agglutinierenden Immunserum gegenüber durchaus unregelmäßig und regellos verhalten, ähnlich den Typhuskulturen verschiedener Provenienz und unbestimmten Laboratoriumsalters; daß aus einer Reinkultur Sekundärstämme gewonnen werden können, die kulturell und agglutinatorisch weder untereinander noch mit der Ausgangskultur übereinstimmen; daß die einzelnen Keime einer Typhusreinkultur und ihre Abkömmlinge auch biologisch untereinander differieren.

Nachdruck verboten.

Einige neue Ergebnisse über die Epidemiologie der Pest.

Untersuchungen der Nagetiere der Astrachanschen Steppe.

Von Privatdozent Dr. **A. I. Berdnikow.**

Literarische Zusammenfassung.

Die Geschichte der Pestepidemieen wird von alters her mit Seuchen verschiedener Tiere in Zusammenhang gebracht. Dieser Zusammenhang läßt sich wie ein roter Faden in den Beschreibungen der meisten Epidemien verfolgen, angefangen von den Seuchen der Philister (1060 v. Chr. Geburt) bis zu unseren Tagen (1).

Im Jahre 1894 entdeckten Yersin und Kitasato den Erreger der Pest — B. pestis —, und der erwähnte Zusammenhang fand so in vielen Fällen dokumentarische Beweise.

Als Nachklang der Pesterkrankungen von Menschen wurden in Hongkong im Jahre 1896 einzelne Erkrankungen von Schweinen an Pest konstatiert [Wilm (2)], von Katzen im Jahre 1900 in Sydney [Hydrothorax, Bronchopneumonie — Ashburton Thompson (3)], eines Iltisses (Putorius foetidus) 1911 in Odessa (Skschiwan und Stschastny). Durch dieselbe Ursache kamen nach Hankin (4) in den Wäldern von Kankhal (Indien) während der Pest im Jahre 1897 in der Nähe der menschlichen Wohnungen Affen (Macacus tinicus) in Massen um. Endlich wurden im Jahre 1912 von I. A. Deminski, N. N. Klodnitzki, A. N. Petrowski, D. I. Feinschmidt und I. I. Schukewitsch Pestkulturen gewonnen aus kranken Kamelen in den Astrachanschen Steppenansiedelungen Saganai, Ak-Tschagyl und Ak-Dshota.

Die besondere Aufmerksamkeit der Forscher war aber stets auf die Nagetiere (Rodentia, s. Glires) gerichtet. Schon im Jahre 1894 wurden in Hongkong, fast gleichzeitig mit der Aufklärung der Frage über die Entstehung der Pest beim Menschen, Pestepizootieen bei Mäusen [Kitasato (5)] und bei Ratten [Yersin (6)] festgestellt (Familie der Muridae). Ein nicht geringes Interesse beansprucht die Familie der Eichhörnchen (Sciuridae). Bei der Gattung Sciurus (Sciurus Palmarum) wurde spontane Pest nachgewiesen von Simond (9) in Karachi im Jahre 1898. Im Jahre 1911 gelang es Sabolotny (10), zu beweisen, daß die sogenannte „Tarbaganen-Krankheit" die spontane Pest des Bobaks ist (Arctomys bobac). Die Untersuchungen von Rücker, McCay (11) bewiesen Pestepizootieen bei den Nagetieren aus der Familie der Eichhörnchen (Erdhörnchen, Otospermophilus s. Citellus Beechey, Gattung Arctomys? oder Spermophilus?).

Auslegung der Tatsachen.

Ein neues Glied in der beschriebenen Kette von Funden bilden die von mir[1]) festgestellten Tatsachen. Im September 1912 wurde ich von der Antipestkommission in die Pestgegend an der Wolga (Zarewscher Kreis des Gouvernements Astrachan) abkommandiert zur Aufklärung der Ursachen der wiederholt auftretenden Pest und zur Untersuchung der Nagetiere. Nach Uebereinkunft mit W. A. Taranuchin (dem Bevollmächtigten der Organisation des Kampfes mit der Seuche) formierte ich ex tempore eine Expedition, an welcher als Hilfskräfte die Studentin A. D. Michailowa und Dr. J. W. Aljakrizkaja teilnahmen. Unsere kleine Expedition richtete ein Laboratorium ein auf dem Chutor Romanenko[2]), 85 Werst nordöstlich von Rachinka (Dorf, in dem die Pest plötzlich ausbrach), 40 Werst südwestlich vom großen Landungsplatze an der Wolga „Bykowa". In der Umgegend von Chutor Romanenko waren unter der Oberaufsicht des dortigen Veterinärarztes W. N. Obraszow 6 Detachements zum Einfangen der Nagetiere gebildet worden. Jedes Detachement bestand aus einem Feldscher oder einer Studentin und aus 4 Arbeitern. Die Nagetiere wurden mit besonderen Zangen oder mit den Händen (in Fausthandschuhen) entweder auf ebener Erde oder nach Aufgrabung der Löcher (Eingießen von Wasser) gefangen; auch wurden für die Untersuchung taugliche Kadaver aufgelesen.

Wir konnten bereits am 22. September an die Arbeit gehen, als die Ziesel noch nicht in Winterschlaf verfallen waren. Deshalb wurde anfangs ein ausgiebiges Material an Zieseln eingeliefert. Später (zur Zeit des Winterschlafes) wurde die Zahl der Ziesel geringer; an ihrer Stelle gab es hauptsächlich Erdhasen (Familie Dipodiae, Gattung Dipus)[3]).

Unser Versuch, bei den Nagetieren der Steppe von Astrachan spontane Pest zu finden, war nicht der erste. Schon im Jahre 1899 veröffentlichte M. G. Tartakowski (12) interessante Daten über die Untersuchung von 224 Zieseln in der Umgegend von Kolobowka (zur Zeit des Aufflackerns der Pest). In derselben Richtung arbeitete die Expedition des Dr. W. J. Goss und zum Teil die Expedition I. I. Metschnikows (I. I. Schukewitsch)[4]). Den genannten Forschern ist es nicht gelungen, positive Daten zu gewinnen. Mit Hinsicht auf die oben erwähnten Umstände versprachen wir uns von unseren Arbeiten von vornherein wenig Erfolg, und wir hegten deshalb den Wunsch, die Methodik der Untersuchungen gewissen neuen Variationen zu unterwerfen.

Wegen Mangels an der entsprechenden Einrichtung (Geschirr, Apparate) war es uns nicht möglich, die bakteriologische Methode auf breiter Basis durchzuführen. Deshalb entschloß ich mich, im Gegensatz zu den bisherigen Forschern, die experimentelle Methode in weitem Umfange zur

---

1) Und unabhängig von mir von dem vorzeitig während seiner wissenschaftlichen Arbeiten verstorbenen Dr. I. A. Deminski.

2) Dieser Ort wurde gewählt aus epidemiologischen Gründen, die aus dem Folgenden verständlich werden.

3) Vom 22. September bis zum 9. Oktober wurden 291 Untersuchungen ausgeführt, und zwar an 136 Zieseln, 82 Erdhasen, 4 Hamstern, 12 Erdratten, 5 Feldmäusen, 1 Hausmaus, 1 Igel, 30 Meerschweinchen, 20 weißen Mäusen.

4) Das Material dieser Expedition ist nicht veröffentlicht worden.

Anwendung zu bringen, d. h. Organemulsion (Minimum der Milz) von allen zu untersuchenden Tieren, sogar bei negativen pathologisch-anatomischen Befunden, Tieren einzuspritzen.

Hier trat uns aber ein großes Hindernis, ebenfalls organisatorischen Charakters, in den Weg. Wir verfügten im ganzen über nur 30 Meerschweinchen (anfangs 15) und 20 weiße Mäuse (anfangs 5). Mir blieb daher nichts weiter übrig, als dieselben Tiere für die Experimente zu benutzen. So entstand folgende Methodik: Das Tier wurde geöffnet (lebende wurden mit Chloroform getötet), nach Betrachtung der Organe wurden Ausstrichpräparate aus Milz und Leber gemacht (Färbung nach Gram) und Organemulsion (Minimum der Milz) dem Tiere eingespritzt. Wenn keine Abweichungen von der Norm beobachtet wurden, so wurde die Injektion dem Ziesel in die Bauchhöhle gemacht; wenn irgend etwas Verdächtiges beobachtet wurde, so wurde außerdem ein Meerschweinchen oder eine Maus oder beide infiziert.

Einwendungen gegen diese Methodik waren a priori zu erwarten, und in der Folge erwies es sich, daß die Mängel derselben sich bei den Resultaten stark fühlbar machten, jedoch sah ich keinen anderen Ausweg. Ungeachtet dessen gelang es uns, einige Resultate zu erhalten. Ich gebe die Protokolle der drei interessantesten Fälle im folgenden wieder:

Protokoll No. 46.

28. Sept. Toter Ziesel aus der Steppe unweit des Chutor Beljakow.

Sektion: Aeußere Verletzungen nicht sichtbar. Das subkutane Fettpolster ist schwach entwickelt. Pathologische Abweichungen wurden nicht gefunden.

Mikroskopisch in der Milz eine bedeutende Menge morphologisch pestähnlicher Stäbchen. Kultur nicht erhalten. Einspritzung von Milzemulsion:

1) Maus (No. 46A) in die Bauchhöhle,
2) Maus (No. 46B) subkutan (in die Pfote),
3) Meerschweinchen (No. 46C) in die Bauchhöhle,
4) Ziesel (No. 46D) in die Bauchhöhle,
5) Leberemulsion wurde dem Meerschweinchen (No. 46E) in die Bauchhöhle eingespritzt,
6) Ziesel (No. 46H) in die Bauchhöhle.

1. Maus No. 46A kam vor Ablauf von 24 Stunden um. Sektion: Milz vergrößert, kirschfarben, in der Bauchhöhle einige Tropfen eines fadenziehenden, trüben, Exsudates, Hyperämie der Hautgefäße, in der linken Leistengegend an der Stelle der Drüse ein teigig-blutiges Infiltrat. Sonst keine Abweichungen. Mikroskopisch im Blute, in der Milz, in der Leber, im Exsudate der Bauchhöhle eine große Menge morphologisch pestähnlicher Stäbchen. Kultur No. 46a wurde erhalten aus dem Herzblute.

2. Maus No. 46B kam vor Ablauf von 24 Stunden um. Sektion: Injektion der Hautgefäße, fadenziehendes Oedem, Infiltrat an der Stelle der linken Leistendrüse, Hyperämie der Milz. Sonst keine Abweichungen. Mikroskopisch in der Milz und in der Oedemflüssigkeit aus der Leistengegend morphologisch pestähnliche Stäbchen. Aus der Oedemflüssigkeit wurde die Kultur No. 46b erhalten.

3. Meerschweinchen No. 46C starb vor Ablauf von 24 Stunden. Sektion: Hyperämie der Hautgefäße. Die linke Leistendrüse tritt deutlich hervor. Leistengegend ödematös. In der Bauchhöhle eine große Menge eines trüben, fadenziehenden Exsudates. Mikroskopisch im Blute, in den Organen und im Exsudate der Bauchhöhle eine große Menge morphologisch pestähnlicher Stäbchen. Aus dem Exsudate und aus dem Blute wurde die Kultur No. 46c erhalten.

4. Meerschweinchen No. 46a, infiziert am 30. Sept. subkutan mit der Kultur No. 46a, starb in der Nacht zum 4. Okt. Sektion: Bubo in der rechten Leistengegend, Nekrose, Infiltrat und gallertiges Oedem an der Injektionsstelle. Mikroskopisch morphologisch pestähnliche Stäbchen in der Milz und im Bubo. Kultur aus dem Herzblut.

5. Meerschweinchen No. 46b starb am 2. Okt., es war infiziert am 30. Sept. mit der Kultur von der Maus No. 46b. Sektion: Hyperämie und Infiltrat in der Leistengegend. In der Bauchhöhle eine geringe Menge eines faden-

ziehenden, hämorrhagischen Exsudates. Die Milz ist hyperämisch und vergrößert. Im ganzen Bauchfell Hämorrhagien. Mikroskopisch im Blut, im Exsudate und in den Organen eine große Menge morphologisch pestähnlicher Stäbchen. Aus dem Herzblute wurde eine Kultur erhalten.

6. Meerschweinchen No. 46c wurde am 1. Okt. in die Bauchhöhle mit der Kultur vom Meerschweinchen 46c infiziert und starb in der Nacht auf den 3. Okt. Sektion: schleimiges, trübes Exsudat in der Leistengegend; die Lymphdrüsen treten deutlich hervor und sind hyperämisch, Hämorrhagien des Bauchfelles. Mikroskopisch im Exsudate und in den Organen eine große Menge morphologisch pestähnlicher Stäbchen. Kultur No. 46c aus dem Exsudate.

7. Meerschweinchen No. 46E ging in der Nacht auf den 3. Okt. ein, d. i. am 8. Tage nach der intraperitonealen Injektion der Leberemulsion. Sektion: Starke Injektion der Hautgefäße, besonders um die vergrößerten Leistendrüsen herum. Mikroskopisch im Blute und in den Organen morphologisch pestähnliche Stäbchen. Kultur erhalten.

8. Ziesel No. 46D starb vor Ablauf von 24 Stunden. Sektion: In der Bauchhöhle eine geringe Menge eines blutigen, trüben Exsudates. Vergrößerung und Hyperämie der Milz. Mikroskopisch im Blut, in den Organen und im Exsudate eine bedeutende Menge morphologisch pestähnlicher Stäbchen. Kultur aus dem Herzblut.

9. Ziesel No. 46H wurde am 29. Sept. infiziert mit Leberemulsion in die Bauchhöhle. Erkrankungserscheinungen nicht beobachtet. Wurde am 4. Okt. mit Chloroform getötet. Sektion: Abweichungen nicht beobachtet. Mikroskopisch keine Mikroorganismen. Kulturen nicht erhalten.

Im Laboratorium auf dem Fort Kaiser Alexander I. wurden die Kulturen No. 46a, b und c nochmals kontrolliert; morphologisch pestähnliches Wachstum auf Bouillon, Gelatine und auf Agar war typisch für B. pestis. Involutionsformen auf 3-proz. Salzagar typisch. Agglutinationserscheinungen mit spezifischem Serum in der Verdünnung 1:200—1:400.

Meerschweinchen No. 46M wurde am 29. Okt. subkutan mit $^1/_{10}$ Oese der Kultur No. 46a infiziert. Starb am 4. Nov. Sektion: Injektion der Hautgefäße, an der Injektionsstelle Nekrose und Infiltrat, linksseitiger Bubo in der Leistengegend, Leber hyperämisch, Marmormilz. Mikroskopisch im Blut und in den Organen morphologisch pestähnliche Stäbchen. Kultur aus dem Herzblute.

Meerschweinchen No. 46N subkutan infiziert am 29. Okt. mit $^1/_{100}$ Oese der Kultur No. 46a. Starb am 4. Nov. Sektion: Das subkutane Zellgewebe glänzend (Oedem), Hyperämie, an der Injektionsstelle Nekrose und Infiltrat, Hyperämie der Leber, Marmormilz. Mikroskopisch im Blute und in den Organen morphologisch pestähnliche Stäbchen. Kulturen aus dem Blute und aus den Organen.

Schlußfolgerung: Die Kulturen müssen als Pest bezeichnet werden.

Protokoll No. 53.

28. Sept. Lebender Erdhase aus der Umgebung der Chutore Klimow und Oreschkin. Sektion: Abweichungen nicht gefunden. Mikroskopisch in der Milz außer dünnen, ziemlich langen, gleichmäßig färbbaren Stäbchen wurde konstatiert die Gegenwart von morphologisch pestähnlichen Stäbchen. Kulturen nicht erhalten. Einspritzung von Milzemulsion der Maus No. 53A subkutan und dem Meerschweinchen No. 53A in die Bauchhöhle.

1. Maus No. 53A kam nach 48 Stunden um. Sektion: Die rechte Leistendrüse stark ausgeprägt, die umgebenden Gefäße hyperämisch. Mikroskopisch keine Mikroorganismen. Kulturen nicht erhalten. Einspritzung von Milzemulsion der Maus No. 53B.

5. Okt. 2. Maus No. 53B wurde mit Chloroform getötet am 5. Okt.[1]). Sektion: Die Leistendrüsen deutlich ausgeprägt und hyperämisch. Mikroskopisch keine Mikroorganismen. Kulturen nicht erhalten.

6. Okt. 3. Meerschweinchen No. 53A wurde am 6. Okt. mit Chloroform getötet[1]). Sektion: Die Drüse in der rechten Leistengegend stark ausgeprägt und hyperämisch, Spuren einer fadenziehenden Exsudates in der Bauchhöhle. Mikroskopisch in der Drüse morphologisch pestähnliche Stäbchen. Aus dem Exsudate und aus der Drüse wurde die Kultur No. 53a erhalten.

---

1) Aus Anlaß der Liquidation der Arbeiten.

Kontrolluntersuchungen im Laboratorium auf dem Fort Kaiser Alexander I. wiesen die Identität der morphologischen und biologischen Eigenschaften der Kultur No. 53a mit typischen Pestkulturen nach.

Meerschweinchen No. 53C wurde am 30. Okt. subkutan mit $^1/_2$ Oese der Kultur No. 53a infiziert, starb am 3. Nov. um 10 Uhr morgens. Sektion: An der Injektionsstelle Nekrose und ein sehr bedeutendes Infiltrat; Injektion der Hautgefäße, Vergrößerung und Hyperämie der Leistendrüsen, Hyperämie der Leber, Marmormilz. Mikroskopisch im Blute und in den Organen morphologisch pestähnliche Stäbchen. Kultur aus Blut und Organen.

Schlußfolgerung: Die erhaltene Kultur muß unbedingt als Pest anerkannt werden.

Protokoll No. 61.

29. Sept. Lebender Erdhase aus der Umgebung des Chutors Beljakow wurde am 29. Sept. mit Chloroform getötet. Sektion: In der Gegend des Diaphragmas ein ausgedehnter, subkutaner Bluterguß (Trauma). Sonst keine Abweichungen. Mikroskopisch keine Mikroorganismen. Einspritzung von Milzemulsion dem Ziesel No. 61A.

1. Ziesel No. 61A wurde tot im allgemeinen Käfig für die Experimentalziesel vorgefunden. Sektion: Die rechte Seite vollständig durchbissen. In der Leber 10 graue, verschieden große (bis linsengroße), scheinbar nekrotische Inselchen. Die Milz etwas vergrößert, in der Mitte ein ebensolches graues Inselchen. Mikroskopisch in den erwähnten grauen Inselchen der Leber und der Milz eine große Anzahl morphologisch pestähnlicher Stäbchen. Einspritzung von Milzemulsion (mit grauen Inselchen) in der Bauchhöhle des Meerschweinchens No. 61B und der Maus No. 61B.

2. Meerschweinchen No. 61B kam um am 2. Okt. Sektion: Hyperämie der deutlich ausgeprägten Leistendrüsen. In der Bauchhöhle eine geringe Menge einer trüben, blutigen Flüssigkeit. Mikroskopisch im Exsudate morphologisch pestähnliche Stäbchen. Einspritzung von Milzemulsion bei Meerschweinchen No. 61C in die Bauchhöhle.

3. Meerschweinchen No. 61C kam um am 5. Okt. Sektion: Hyperämie in der Leistengegend, in der Bauchhöhle eine große Menge eines trüben, bluthaltigen Exsudates. Sonst keine Abweichungen. Mikroskopisch in der Milz und im Exsudat eine geringe Menge morphologisch pestähnlicher Stäbchen. Aus dem Exsudate wurde eine Kultur erhalten.

4. Maus No. 61B kam um am 2. Okt. Sektion: Hyperämie der Leistendrüsen, Spuren eines fadenziehenden Exsudates in der Bauchhöhle. Mikroskopisch im Exsudate und in der Milz eine bedeutende Menge morphologisch pestähnlicher Stäbchen.

5. Maus No. 61C kam um am 3. Okt. Sektion: Deutlich ausgeprägte und hyperämische Leistendrüsen. Eine minimale Menge eines fadenziehenden Exsudates in der Bauchhöhle. Einspritzung von Milzemulsion in die Bauchhöhle des Meerschweinchens No. 61D.

6. Meerschweinchen No. 61D wurde am 7. Okt. mit Chloroform getötet. Sektion: Keine Abweichungen. Mikroskopisch in der Milz große gleichmäßige Stäbchen. Kultur nicht erhalten. Einspritzung von Milzemulsion dem Meerschweinchen No. 61E in die Bauchhöhle.

7. Meerschweinchen No. 61E starb in der Nacht auf den 8. Okt. Sektion: Die Leistendrüsen deutlich hervortretend und hyperämisch. In der Bauchhöhle ein fadenziehendes, trübes Exsudat. Mikroskopisch im Exsudat und in der Milz eine sehr große Menge kleiner bipolarer Stäbchen. Eine Kultur dieser Stäbchen wurde aus dem Exsudate erhalten.

Die Kontrolluntersuchungen auf dem Fort gaben folgende Resultate:

I. Die Kultur aus dem Exsudate des Meerschweinchens No. 61C erwies sich als Gemisch aus grampositiven und gramnegativen Stäbchen. Die Untersuchung der letzteren auf Nährböden ergab die Identität derselben mit Pestbakterien, was durch die Agglutinationsreaktion (Verdünnung 1:200) und durch das Experiment am Meerschweinchen No. 61 bestätigt wurde.

Meerschweinchen No. 61 wurde am 29. Okt. subkutan infiziert mit der Kultur No. 61C, kam um am 3. Nov. um 3 Uhr nachmittags. Sektion: An der Injektionsstelle ausgedehnte Nekrose und Infiltrat, linksseitiger Leistenbubo, Hyperämie der Leber, Marmormilz. Mikroskopisch im Blut und in den

Organen morphologisch pestähnliche Stäbchen. Kultur aus dem Blut und aus den Organen.

II. Die Kultur aus dem Meerschweinchen No. 61E erwies sich nicht als Pest, die Untersuchung derselben wird fortgesetzt.

Welche Schlußfolgerungen erlaubt uns nun das beschriebene Material?

Die erste Schlußfolgerung — wir können dieselbe ganz kategorisch aussprechen — ist die, daß in den Organen der Ziesel und Erdhasen in der Umgebung des Chutors Romanenko lebensfähige und für Meerschweinchen, weiße Mäuse und Ziesel bis zu einem gewissen Grade virulente Pestbakterien gefunden wurden.

Den klaren Beweis für das Gesagte liefert das erste Protokoll (No. 46) und das zweite Protokoll (No. 53). Das dritte Protokoll gibt keine klare Vorstellung davon, von welchem Tiere (Ziesel oder Erdhase) das Pestmaterial stammt und wo die Quelle der sekundären Infektion zu suchen ist. Die Frage der sekundären und überhaupt pestfreien Erkrankungen will ich hier nicht erörtern. Was die erste Undeutlichkeit anbelangt, so kann hier nur eine wahrscheinliche Vermutung ausgesprochen werden. Das gleichzeitige Vorhandensein in den Organen des Ziesels No. 61A von Pestbakterien und von Auswüchsen mit nekrotischem Charakter (in Leber und Milz) legt den Gedanken nahe, ob hier nicht eine chronische Knotenform der Pest vorliegt. Wegen der nur einmaligen Beobachtung entschließe ich mich nur mit Vorbehalt zur Annahme der Existenz von chronischen Pesterkrankungen.

Diese Annahme wird jedoch zur Wahrscheinlichkeit, wenn man einige am Entstehungsorte der Pest, hauptsächlich vom Detachement W. N. Obraszows, gesammelte Daten berücksichtigt.

Erstens kann es auf Grund von Daten des Ackerbauministeriums und von Aussagen der Chutorbewohner als zweifellos gelten, daß im verflossenen Sommer eine chemische[1]) Massenvertilgung der Ziesel nicht vorgenommen wurde. Die Chutorbewohner beschränkten sich zum Schutze der Saaten auf den gewöhnlichen Fang der Tiere, hauptsächlich mit den Händen.

Ungeachtet dieser Umstände behaupten die örtlichen Bewohner kategorisch (diese Aussagen werden durch ärztliche und polizeiliche Aussagen beglaubigt), daß im Juli bei den Zieseln ein massenhaftes Eingehen beobachtet wurde. Sie erzählen, daß die Ziesel aus den Löchern herauskamen, sich wankend einige Arschin weit fortbewegten und mit schaumbedecktem Munde unter Krämpfen eingingen. Die Daten von Dr. Obraszow über die Tätigkeit der Ziesel-Detachements stehen mit dem Gesagten im Einklange —, die Anzahl der bewohnten Zieselgänge in der Umgebung des Chutor Romanenko war minimal (sie betrug einige Zehntel Prozent), während sie nach den Beobachtungen von Spezialisten (Lebedew) normalerweise 30 Proz. ausmacht. Mit der Entfernung vom Chutor Romanenko wuchs dieses Prozentverhältnis exzentrisch. Bei der Gegenüberstellung dieser Daten ergibt sich folgendes Bild: Im Juli herrschte unter den Zieseln eine Pestepizootie, die zum Herbst allmählich an Stärke abnahm. Im Moment der Arbeiten (Ende September) war die Epizootie wahrscheinlich schon zu Ende —

1) Das Ackerbauministerium und einige Semstwos benutzen zur Vertilgung der Ziesel, in Anbetracht der Schädlichkeit derselben für die Saaten, häufig Schwefelkohlenstoff. F. Lebedew, Ueber den Kampf mit den Zieseln. 1912.

bis auf einzelne chronische und latente Formen. Die eben ausgesprochenen Vermutungen erhalten eine starke Stütze durch die Ergebnisse des Experimentes. Die von Dr. Tartakowski in der Steppe bei Kolobow zur Zeit der Pest angestellten Versuche stellten die größte Empfänglichkeit der Erdhasen für die Pest und eine unbedeutende (aber nicht absolute) Empfänglichkeit der Ziesel für die Krankheit fest. Aber bei den Versuchen mit diesen und jenen Tieren stellte Dr. Tartakowski ein fast völliges Fehlen scharf ausgeprägter pathologischer Veränderungen fest; wir finden hier weder Bubonen noch die Marmormilz, noch Hämorrhagien der serösen Häute usw.; bei subkutaner Infektion wird nur ein lokales Infiltrat beobachtet. Ob der Organismus dieser Nagetiere im pathologisch-anatomischen Sinne immer so wenig scharf reagiert, oder ob dieses dadurch geschah, daß Dr. Tartakowski seine Versuche ebenfalls im Herbste anstellte, ist schwer zu sagen. Folgende Experimente sind aber noch anschaulicher: D. K. Zabolotny und Dr. Tschurilina beobachteten in der Mandschurei, daß Tarbagane, die nach der Infektion in Winterschlaf verfielen, 10—12 Tage weiterlebten, während die Kontrolltiere, die nicht einschliefen, in 3 bis 4 Tagen an der Pest eingingen. Dujardin-Beaumetz und Mosny (13) beobachteten einen langwierigen Verlauf der Pest (ca. 100 Tage) bei schlafenden Alpenmurmeltieren, bei der Sektion keine besonderen Erscheinungen und nur chronische pneumonische Herde.

Die angeführten Tatsachen lassen, im Einklange mit unseren Beobachtungen, zum Herbst vor dem Eintritt des Winterschlafes und besonders während desselben das Auftreten chronischer und sogar latenter Formen der Pest bei dieser Art Nagetiere annehmen. Aber abgesehen hiervon, ist es möglich, daß die Pestbakterie selbst durch das Verweilen im Organismus der Nagetiere sich bezüglich ihrer Virulenz zeitweilig verändert und vielleicht auch die Lebensfähigkeit einbüßt.

Während der Arbeit wollte es sowohl mir als, soweit mir bekannt, auch Dr. I. A. Deminski lange Zeit nicht gelingen, weder durch Kulturen, noch experimentell Pestbakterien zu erhalten in Fällen, wo mikroskopisch typische Stäbchen vorhanden waren. Als Beispiel, wie leicht die Bakterien unseren Händen entschwanden, könnte ich außer dem oben angeführten Protokoll No. 61 noch viele andere anführen; ich begnüge mich mit zweien:

Protokoll No. 1.

Ziesel, wurde im Westen vom Chutor Panitschkin (5 Werst von Romanenko) gefunden und am 21. Sept. tot eingeliefert. Sektion: Am Munde Blutspuren, äußere Verletzungen fehlen. In der Brusthöhle eine große Menge blutiger Flüssigkeit, auf dem Pericard ausgedehnte Extravasate, Hyperämie der Leber und der Lungen. Mikroskopisch keine Mikroorganismen, Kultur nicht erhalten. Einspritzung von Milzemulsion dem Ziesel No. 1A.

1. Ziesel No. 1A ging ein am 25. Septbr., am 3. Tage. Sektion: Aeußere Verletzungen nicht beobachtet, die Leistendrüsen treten deutlich hervor. Bauch- und Darmgefäße hyperämisch. Mikroskopisch pestähnliche Bakterien in großer Menge in der Milz und in geringer Menge in der Drüse. Kultur nicht erhalten. Einspritzung von Emulsion aus Milz und Drüse in die Bauchhöhle des Meerschweinchens No. 1A.

2. Meerschweinchen No. 1A wurde am 6. Okt., also am 10. Tage, mit Chloroform getötet. Sektion: Die linke Leistendrüse deutlich ausgeprägt. Mikroskopisch in der Milz keine Bakterien, in der Drüse gleichmäßig färbbare Stäbchen. Kultur nicht erhalten.

Protokoll No. 40.

27. Sept. Ziesel, getötet mit Chloroform. Sektion: Keine Abweichungen, Einspritzung von Milzemulsion dem Ziesel No. 40A in die Bauchhöhle.

Ziesel No. 40A wurde am 5. Okt. im allgemeinen Käfig für die Experimentalziesel totgebissen. Sektion: Rechtsseitiger Schenkelbubo. Mikroskopisch in der Drüse und in der Milz morphologisch pestähnliche Stäbchen. Kultur nicht erhalten. Einspritzung von Drüsenemulsion der Maus No. 40B, von Milzemulsionen dem Meerschweinchen No. 40B.

Maus No. 40B getötet mit Chloroform nach 24 Stunden. Sektion: Die rechte Leistendrüse deutlich ausgeprägt. Mikroskopisch keine Mikroorganismen. Kultur nicht erhalten.

Meerschweinchen No. 40B wurde am 7. Okt. mit Chloroform getötet. Sektion: Vergrößerung und Hyperämie der linken Leistendrüse. Mikroskopisch keine Mikroorganismen. Kulturen nicht erhalten. Einspritzung von Emulsion aus Milz und Drüse dem Meerschweinchen No. 40C in die Bauchhöhle.

Meerschweinchen No. 40C ging nach 24 Stunden ein. Sektion: Hautgefäße injiziert, besonders in der Drüsengegend; Anzeichen eines Exsudates in der Bauchhöhle. Mikroskopisch in der Milz einzelne gramnegative Stäbchen mit undeutlich ausgebildeten Polen. Kultur nicht erhalten.

In den angeführten Protokollen finden wir allerdings außer dem Eindrucke, den wir bei der Betrachtung der Ausstrichpräparate gewinnen, keine weiteren Momente, die die Gegenwart von Pestbakterien beweisen, aber im Zusammenhange mit allem anderen entsteht der Verdacht, ob wir es in einigen Fällen (und es könnten noch mehr solcher Beispiele angeführt werden) nicht mit latenten Formen der Pest zu tun hatten, ob wir unter dem Mikroskope nicht biologisch geschwächte Pestbakterien hatten. Leider hatten wir nicht die Möglichkeit, uns vollständig der bakteriologischen Methode zu bedienen und mußten wegen der allgemeinen Einstellung der Arbeiten die Experimente notgedrungen einstellen. Es freut uns, daß alle diese Mängel in allernächster Zeit durch die Expeditionen unter der Leitung von D. K. Zabolotny natürlich werden beseitigt werden. Somit sind im Organismus der Ziesel und Erdhasen in der Umgebung des Chutor Romanenko zweifellos Pestbakterien gefunden worden.

Wie ist nun dieses Faktum mit dem Auftreten der Pest beim Menschen im Chutor Romanenko und Rachinka in Zusammenhang zu bringen?

Hier sind drei Voraussetzungen möglich. Erstens, daß es eine Begleiterscheinung ist, ebenso wie die Fälle spontaner Pest bei Schweinen (Wilm), Katzen (Thompson), Ultis (Skschiwan und Stschastny) Eseln, Hunden usw. (Mukdensche Kommission) und möglicherweise auch bei Affen (Hankin).

Zweitens, daß die Nagetiere einen zeitweiligen Zwischenwirt darstellen. wie Fliegen, Flöhe u. a.

Drittens endlich, daß wir es mit einer dauernden Infektionsquelle des Menschen zu tun haben, einer Quelle, die sich gewissermaßen selbst speist, und daß hier eine der Ursachen der in der gegebenen Gegend endemischen Pest zu suchen ist.

Die dritte Voraussetzung erscheint mir am wahrscheinlichsten. Wenn wir die Verwandten der Ziesel und Erdhasen, die Nagetiere der Ordnung Rodentia, mit Aufmerksamkeit verfolgen, so finden wir, daß alle die Arten Nagetiere, die dem Experimente unterworfen wurden, in bedeutendem Maße empfänglich sind für die Pest; bei vielen wurde spontane Pest beobachtet und bei Ratten und Mäusen (Muridae), Tarbaganen, Eichhörnchen (Sciuridae) ist ihre endemiologische Bedeutung bewiesen worden. Unwillkürlich drängt sich da der Gedanke auf, ob in dieser Kette als neue Glieder sich nicht die Ziesel und Erdhasen ein-

reihen. Diese Erwägungen sind natürlich nicht beweisend, sie sollen nur erläuternde Voraussendungen sein.

Zu Erwägungen anderer Art geben die epidemiologischen Daten Anlaß. Wir unterscheiden ja, natürlich nur schematisch, zwei Typen des Auftretens der Pest, die kontagiöse im Winter — die Lungenform, und die primäre im Sommer „von Ratten" — die Bubonenform. Vom Gesichtspunkte dieses Schemas aus waren auf den Chutoren Romanenko und Rachinka alle Fälle, mit Ausnahme eines, bubonische. Ferner spricht die während des Kongresses in Astrachan ausgesprochene allgemeine Meinung der dortigen Aerzte dafür, daß die erste Entstehungsquelle der Pest die Steppe sei, daß die ersten Fälle aus der Steppe eingeschleppt werden.

Endlich weist auf die endemiologische Bedeutung dieser Nagetiere auch der chronologische Zusammenhang zwischen der Seuche der Nagetiere (Mitte Juli) und dem Auftreten der Pest beim Menschen (29. Juli) hin.

Bevor das Faktum der endemiologischen Bedeutung der Ziesel und Erdhasen anerkannt wird, bedarf es natürlich noch der direkten Beweise, der tatsächlichen Feststellung einer Infektionsweise des Menschen oder vielleicht der Feststellung eines Zwischenwirtes (Flöhe?); einstweilen jedoch muß das als sehr wahrscheinliche Voraussetzung gelten.

Literatur.

1) Sticker, E., Abhandl. a. d. Seuchengeschichte u. Seuchenlehre. Bd. 1. 1910. p. 135.
2) Wilm, Ueber die Pestepidemie in Hong-Kong im Jahre 1896. (Hyg. Rundschau. 1897. p. 291.)
3) Thompson, S. Ashburton, Report on an outbreak of plague at Sydney. 1900; zit. nach Musehold, Die Pest und der Kampf mit ihr. 1902. p. 58.
4) Skschivan, Th., u. Stschastny, S., Ueber einen Fall von Pestübertragung durch Putorius foetidus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. p. 545.)
5) Hankin, E. H., La propagation de la peste. (Ann. de l'Inst. Past. T. 12. 1898. p. 664.)
6) Deminski, I. D., Klodnizki, N. N., Petrowski, A. N., Feinschmidt, D. I., u. Schukewitsch, I. I., Untersuchungen über die Erkrankung der Kamele an Pest. (Westnik Obschtschestwen. Gigieny. 1912. p. 349.)
7) Kitasato, Preliminary note of the bacillus of bubonic plague Hong-Kong 1894. (Lancet. Vol. 2. 1894. No. 8.)
8) Yersin, La peste bubonique à Hong-Kong. (Annal. de l'Inst. Past. 1894. p. 662.)
9) Simond, P. Z., La propagation de la peste. (Annal. de l'Inst. Past. 1898. p. 664.)
10) Sous-Commission de la peste, Deuxième séance. 16. Nov. Paris 1911.
11) Dieudonné, A., u. Otto, R., Die Pest. (Handb. d. pathogen. Mikroorg. von W. Kolle u. Wassermann. Bd. 4. 1912. p. 303.)
12) Tartakowski, M. G., Materialien zur Charakteristik der Pestepidemie in Kolobowka. (Wratsch. 1900. p. 934.)
13) Compt. Rend. T. 155. 1912. p. 329.

Nachdruck verboten.

Ueber die künstliche Uebertragung der Tollwut mit besonderer Berücksichtigung der Infektion der vorderen Augenkammer.

[Aus der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelms-Instituts zu Bromberg.]

Von Dr. **W. Pfeiler** und Dr. **G. Kapfberger.**

Die Uebertragung der Tollwut geschieht unter natürlichen Verhältnissen in der Regel durch den Biß eines tollen Hundes. Von der Bißstelle aus verbreitet sich, unseren jetzigen Anschauungen entsprechend, das Virus den Nervenbahnen entlang nach dem zentralen Nervensystem. Besondere Versuche und die Erfahrung haben gezeigt, daß die Länge der Inkubationszeit ungefähr proportional der Entfernung der Infektionspforte vom zentralen Nervensystem ist. Nach Bißwunden im Gesicht bricht die Tollwut viel schneller aus, als nach solchen an den Extremitäten. Beim Menschen schwankt dementsprechend die Inkubationsdauer zwischen 10 Tagen und einem Jahre, beim Hunde zwischen 10 Tagen und mehreren Wochen. Mit Rücksicht hierauf teilen die Pasteurschen Impfinstitute oder Wutschutzstationen ihre Patienten in Klassen ein und unterwerfen sie je nach der Schwere des Bisses bzw. nach dem Sitze desselben einer mehr oder weniger intensiven Behandlung. Die Erfolge dieser Behandlung sind ganz allgemein für alle Länder, in denen gegen die Tollwut schutzgeimpft wird, günstige zu nennen. Die Mortalität schwankt beim Menschen zwischen 0,3—0,5 Proz.

Demgegenüber erscheint es auffällig, wie ungünstig die Ergebnisse bei Immunisierungsversuchen an Tieren liegen. So haben Frisch, Högyes, Fermi u. a. wenig Erfolge mit ihren Versuchen nach dem Pasteurschen Verfahren bei Tieren gehabt. Es erscheint uns angezeigt, daraut hinzuweisen, daß die wenig ermutigenden Ergebnisse dieser Autoren zu einem Teil wenigstens auf den außerordentlich harten Infektionsmodus zurückzuführen sein dürften, den sie angewandt haben. Wird doch in der Regel die Kontrollimpfung von der Dura aus vorgenommen.

Die im Vorjahre im Bromberger tierhygienischen Institut an Hunden, Kälbern und Schafen ausgeführten Immunisierungsversuche haben unter anderem auch dies gelehrt. Die seinerzeit zu dem Zwecke, ein brauchbares Immunisierungsverfahren gegen Tollwut bei Haustieren zu ermitteln, unternommenen Versuche sind negativ ausgefallen, was wir nicht zuletzt auf die subdurale Infektion zurückführen zu müssen glauben. Wissen wir doch, daß die Wutmikroben im Gehirn die denkbar günstigsten Bedingungen für ihr Leben und ihre Entwickelung finden. In der Gehirnsubstanz pflanzen sich die Lyssaerreger, um mit Babes zu sprechen, in Reinkultur fort.

Soll nun ein Immunisierungsverfahren gegen Lyssa im Laboratorium ausgeprüft werden, so muß bei der Infektion der Versuchstiere ein Modus zur Anwendung kommen, welcher den natürlichen Verhältnissen nahe steht, andererseits aber das sichere Angehen der Infektion gewährleistet. Jedenfalls erscheint es uns unrichtig, von vornherein die subdurale Infektion zu

setzen, die unter keinen Umständen mit der natürlichen Uebertragung verglichen werden kann. Der Ausfall von unter dieser Bedingung angesetzten Immunisierungsversuchen kann unter Umständen die Veranlassung werden, daß falsche Vorstellungen über die Brauchbarkeit eines Immunisierungsverfahrens entstehen.

Der den natürlichen Verhältnissen am meisten entsprechende Infektionsmodus würde der subkutane bzw. intramuskuläre sein. Diese Methode ist als hinreichend sicher bei der Infektion mit Straßenvirus anzusehen. Kaninchen erkranken hierbei durchschnittlich nach derselben Inkubationszeit, wie bei der subduralen Infektion. Unsichere Resultate liefert dagegen dieser Modus bei der Verwendung von Virus fixe. Die Lähmung tritt bei Kaninchen beispielsweise nur in 50 Proz. der Fälle ein und zwar nach einer Inkubationszeit von 17—20 Tagen. Bei Schafen und Kälbern konnten wir auf diese Weise überhaupt keine Infektion erzielen, ebensowenig beim Meerschweinchen und bei der Katze. Beim Hunde scheinen die Verhältnisse etwas günstiger für die Infektion zu liegen. Geringe Mengen von Virus fixe, in die Unterhaut gebracht, erzeugen nach unseren Erfahrungen, die allerdings, was diese Seite der Infektion anlangt, noch gering sind, bei Hunden Tollwut. Die prinzipielle Entscheidung dieser Frage erscheint von Wichtigkeit, und wir werden uns die Lösung derselben weiterhin angelegen sein lassen.

Jedenfalls erscheint uns der subkutane bzw. intramuskuläre Infektionsmodus nach den bei uns gemachten Erfahrungen, die sich im wesentlichen mit denen anderer Autoren decken, so sehr er auch den natürlichen Verhältnissen entsprechen mag, nicht sicher genug, um ihn als Kontrollverfahren bei Immunisierungsversuchen gegen Tollwut vorläufig anwenden zu können.

Wir haben deshalb der Verfolgung der Frage, ob es einen Infektionsmodus gibt, der mit Straßenvirus sowohl, als mit Virus fixe bei allen unseren Versuchstieren (Kaninchen, Hunden, Schafen) sicher Tollwut erzeugt, aber nicht so scharf wirkt, wie die Infektion sub Dura, besondere Aufmerksamkeit zugewandt und können berichten, daß sich uns die Infektion von der vorderen Augenkammer aus, die wir kurz die kamerale nennen wollen, sehr bewährt hat. Die kamerale Infektion bewirkt bei den genannten Tieren sicher den Ausbruch der Tollwut, wenn sie nicht gegen Tollwut geschützt sind, andererseits widerstehen geschützte Tiere der Infektion, der sie erliegen würden, wenn sie subdural infiziert worden wären.

Nocard hat bekanntlich als erster diese Methode empfohlen. Sie ist dann von Johne[1]) in umfangreichem Maße angewandt worden. Er äußert sich zu dieser Frage wörtlich: „Die intraokuläre Impfung von Kaninchen mit Gehirn bzw. Medullasubstanz der unter tollwutverdächtigen Erscheinungen verendeten oder getöteten Hunde erwies sich als ein absolut sicheres diagnostisches Hilfsmittel zur Feststellung der Tollwut.“ Unsere an Kaninchen ausgeführten kameralen Infektionsversuche mit Straßenvirus führten zu demselben Ergebnis. Ebenso sicher gelang die Infektion bei Schafen und Hunden. Wir geben die Ergebnisse unserer auf das Straßenvirus bezüglichen Versuche jedoch nicht in Tabellenform wieder, da wir damit den uns für diese Veröffentlichung zur Verfügung

stehenden Raum weit überschreiten würden, sondern beschränken uns darauf mitzuteilen, daß wir insgesamt 60 Tiere kameral infiziert haben. Davon waren 40 Kaninchen, 12 Schafe und 8 Hunde. Die Infektion ging bei 12 Schafen, 7 Hunden und 39 Kaninchen an.

Die Johneschen Angaben beziehen sich nun lediglich auf die Infektion mit Straßenvirus. Da wir bei unseren Immunisierungsversuchen häufig auf die Anwendung von Virus fixe angewiesen waren, interessierte uns besonders die Frage, ob auch das Virus fixe, kameral injiziert, mit Sicherheit Tollwut erzeugt. Der Beweis dafür dürfte uns gelungen sein. Wir können die Behauptung von Marx[2]): „Sicher ist, daß die intraokuläre Impfung bei Anwendung von Virus fixe häufig nicht zur Infektion führt", auf Grund unserer Versuche nicht teilen. Als Beleg für unsere Meinung geben wir die Ergebnisse unserer kameralen Infektionsversuche mit Virus fixe wieder.

Die in der Tabelle niedergelegten Versuche lehren, daß die kameräle Infektion mit Virus fixe mit Sicherheit bei Kaninchen, Schafen und Hunden gelingt. Für Kaninchen und Hunde wurden als Durchschnittsdauer für die Inkubation 12 Tage, für Schafe 11 Tage ermittelt. Auffallend ist der schnelle Krankheitsverlauf nach kameraler Infektion. Bei Schafen insbesondere konnten wir beobachten, daß die Tiere am Morgen noch fraßen, plötzlich lähmungsartige Zustände bekamen und dann innerhalb weniger Stunden verendeten. Die Krankheitserscheinungen dauerten bei den übrigen Tierarten durchschnittlich einen Tag. Panophthalmieen haben wir im Anschluß an die Impfung niemals beobachtet, nur in einigen Fällen kam es zu einer beschränkten Abszeßbildung. Verschiedene Impftiere, sowohl Kaninchen als auch Hunde, starben stark abgemagert, ohne Lähmungserscheinungen gezeigt zu haben. Wir müssen dazu bemerken, daß die Hunde sämtlich etwa 10 Wochen alte Bernhardiner waren, die aus einem Wurfe stammten. Ob die Rasse oder das Alter der Tierchen bei diesem Ausgang der Tollwut eine Rolle gespielt hat, müssen wir dahingestellt sein lassen. Jedenfalls ist sicher, daß sich das Gehirn der betreffenden Tiere als infektiös erwiesen hat. Wir glauben, diese Fälle im Sinne der „konsumptiven Wut" auffassen zu dürfen. Hund No. 283 hat der kameralen Infektion mit Virus fixe widerstanden. Dieser Ausfall kann uns nicht befremden, wenn wir bedenken, daß es sicher eine ganze Reihe von Hunden gibt, die eine natürliche Immunität besitzen.

Wert der Mitteilung erscheinen uns noch zwei Beobachtungen, die wir gelegentlich dieser Infektionsversuche gemacht haben. Hund No. 53, dessen Augen bisher nichts Abnormes aufgewiesen hatten, zeigte am Tage vor seinem Tode an beiden Augen ausgesprochenes Schielen, bevor noch sonst ein Tollwutsymptom sichtbar geworden war. Erst im Laufe des Tages stellten sich Lähmungserscheinungen ein.

Die andere Beobachtung betrifft den Hund No. 244. Dieser erkrankte 8 Tage nach der kameralen Infektion mit Virus fixe unter dem Bilde der Straßenwut. Zuerst stellte sich bei dem Hunde ein ausgeprägter Trieb zum Entweichen ein, derselbe steigerte sich zur Raserei. Das Tier ging abwechselnd die Wände hoch und rannte sinnlos in der Boxe herum, wobei es häufig mit dem Kopfe gegen die Wand stieß. Beißsucht fehlte. Wir weisen auf diesen Fall besonders hin, weil unseres Wissens erst ein einziger Fall von

Camerale Infektion mit Virus fixe.

Tiergattung	Lfde. No.	Tag der Infektion	Beginn der Lähmung	Tag des Todes	Resultat	Bemerkungen
Hund	53	3. 9. 1912	12. 9. 1912	13. 9. 1912	Lyssa	Schielt am 12. 9. vormittags.
„	104	13. 9. „	26. 9. „	27. „ „	„	
Schaf	113	5. 12. „	17. 12. „	17. 12. „	„	
Hund	163	27. 9. „	11. 10. „	12. 10. „	„	
„	244	12. 10. „	21. „ „	21. „ „	„	20. 10 abends rasende Wut. lebt.
„	283	4. 11. „	—	—		
„	284	4. „ „	3. 12. „	4. 12. „	„	
Kaninchen	304	23. 10. „	3. 11. „	5. 11. „	„	
„	305	„ „ „	6. „ „	7. „ „	„	
„	306	„ „ „	2. „ „	4. „ „	„	
„	307	„ „ „	13. „ „	15. „ „	„	
„	308	„ „ „	2. „ „	4. „ „	„	
„	322	25. „ „	3. „ „	6. „ „	„	
„	323	„ „ „	5. „ „	„ „ „	„	
„	325	„ „ „	—	7. 12. „		Todesursache nicht feststellbar.
„	346	29. 10. „	—	29. 11. „		Dgl.
Hund	355	„ „ „	11. 11. „	13. „ „	„	
„	356	„ „ „	—	16. „ „	„	
Kaninchen	380	12. 11. „	25. 11. „	26. „ „	„	
„	382	„ „ „	21. „ „	23. „ „	„	
Hund	407	4. „ „	20. „ „	21. „ „	„	
„	408	„ „ „	12. „ „	14. „ „	„	
Kaninchen	441	16. „ „	26. „ „	28. „ „	„	
Lamm	447	12. „ „	22. 4. „	24. „ „	„	
Kaninchen	453	28. 12. „	8. 1. 1913	10. 1. 1913	„	
„	458	„ „ „	„ „ „	„ „ „	„	
„	459	„ „ „	9. „ „	12. „ „	„	
„	463	„ „ „	7. „ „	8. „ „	„	
„	465	„ „ „	12. „ „	13. „ „	„	
„	468	„ „ „	—	5. „ „	„	Lähmung nicht beobachtet.
„	471	14. 11. „	26. 11. 1912	28. 12. 1912	„	
Hund	483	„ „ „	—	2. „ „	„	
„	484	„ „ „	24. 11. „	25. 11. „	„	
Schaf	515	21. „ „	2. 12. „	6. 12. „	„	
Hund	517	22. „ „	—	10. „ „	„	Die Tiere sind stark abgemagert. Lähmung bei keinem Hunde beobachtet.
„	518	„ „ „	—	13. „ „	„	
„	519	„ „ „	—	„ „ „	„	
Kaninchen	562	25. „ „	7. 12. „	7. „ „		
Hund	577	27. „ „	11. „ „	12. „ „	„	
Schaf	578	„ „ „	8. „ „	10. „ „	„	
Kaninchen	616	6. 12. „	16. „ „	17. „ „	„	
„	635	7. „ „	„ „ „	„ „ „	„	
„	652	28. „ „	10. 1. 1913	12. 1. 1913	„	
„	654	„ „ „	„ „ „	13. 1. „	„	
„	664	12. 1. 1913	19. „ „	20. „ „	„	
„	665	„ „ „	28. „ „	29. „ „	„	
„	667	13. 12. 1912	—	19. 12. 1912	„	Lähmung nicht beobachtet.
„	673	16. „ „	2. 1. 1913	3. 1. 1913	„	
„	676	„ „ „	27. 12. 1912	28. 12. 1912	„	
„	678	„ „ „	30. „ „	31. „ „	„	
„	683	17. „ „	2. 1. 1913	3. 1. 1913	„	
„	686	„ „ „	28. 12. 1912	28. 12. 1912	„	
„	688	„ „ „	31. „ „	31. „ „	„	
Hund	765	21. „ „	5. 1. 1913	6. 1. 1913	„	

Tiergattung	Lfde. No.	Tag der Infektion	Beginn der Lähmung	Tag des Todes	Resultat	Bemerkungen
Hund	766	21. 12. 1912	31. 12. 1912	2. 1. 1913	Lyssa	
„	779	23. „ „	2. 1. 1913	3. „ „	„	
„	780	24. „ „	3. „ „	4. „ „	„	
„	784	„ „ „	2. „ „	2. „ „	„	
„	785	„ „ „	2. „ „	3. „ „	„	
Lamm	811	29. „ „	7. „ „	8. „ „	„	
„	812	„ „ „	7. „ „	7. „ „	„	
„	888	8. 1. 1913	22. „ „	23. „ „	„	
Kaninchen	983	23. „ „	2. 2. „	3. 2. „	„	
„	984	„ „ „	5. „ „	6. „ „	„	
„	985	„ „ „	—	5. „ „	„	Lähmung nicht beobachtet.
„	34	6. 2. „	16. „ „	17. „ „	„	

rasender Wut nach Infektion mit Virus fixe, und zwar von Babes, mitgeteilt worden ist.

Literatur.

1) Johne, Tollwutimpfungen zu diagnostischen Zwecken. (Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 2. 1898. p. 349—371.)
2) Marx, E., Lyssaimmunität. (Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. 4. Teil 2. p. 1274.) Jena (G. Fischer) 1904.

Nachdruck verboten.

Ueber Sarkosporidin.

Von Dr. **L. Cominotti** in Mailand.

Die spärlichen Kenntnisse, die man vor den letzten 20 Jahren über Sarkosporidien besaß, veranlaßten eine Reihe von Untersuchungen, welche einen bemerkenswerten Beitrag zur Biologie und Morphologie dieser Protozoen bilden.

L. Pfeiffer (1) war der erste, der im Jahre 1890 eine solche Versuchsreihe einleitete. Er stellte fest, daß die Impfung einer Emulsion von Sarkocystitis tenella krankhafte Erscheinungen bei Mäusen, Kaninchen und Schafen hervorrief, die meistens unter tetanischen Erscheinungen zum Tode führten.

Auf die Pfeifferschen Forschungen folgten die Versuche von Laveran und Mésnil (2), aus welchen hervorgeht, daß die Sarkosporidien ein wirkliches Toxin enthalten, welches Sarcocystin genannt und an welchem einige wichtige Eigenschaften erforscht wurden.

Smith (3) stellte als erster den intestinalen Ursprung der Sarkosporidieninfektion fest. Durch Füttern von Mäusen mit Muskelgewebe der Parasiten erzielte er eine typische Sarkosporidiose.

Negri (4) bestätigte nach einem wertvollen Studium der Morphologie der Sarkosporidien die Resultate von Smith, indem er die experimentelle Sarkosporidiose nicht nur bei Mäusen, sondern auch bei Meerschweinchen feststellte und außerdem die Entwickelung der Sarkosporidien in der Muskulatur erforschte.

Rievel und Behrens (5) führten die Untersuchungen von Laveran und Mésnil über die Eigenschaften der Toxine der Sarkosporidien fort, und kamen zu dem Ergebnis, daß diese Substanz, die sie Sarkosporidin nannten, als ein Neurotoxin anzusehen sei, weil es spezifisch auf das Zentralnervensystem empfänglicher Tiere wirkt.

Erdmann (6) erweiterte unsere Kenntnisse über die Morphologie der Sarkosporidien und ihre Entwickelung; außerdem wurden Parasiten während ihres Eindringens in die Darmwand beobachtet.

Auch Betegh (7) hat wesentlich zur Kenntnis des Entwickelungsganges der Sarkosporidien beigetragen.

Teichmann (8) untersuchte die giftige Wirkung der Sarkosporidien bei einigen Tierarten, ferner einige Eigenschaften der Toxine und die aktive und passive Immunisierung von Kaninchen gegen die Toxine.

Sabrazès und Muratet (9) bestätigten die Giftigkeit des Extraktes der Sarkosporidien des Pferdes (Sarkocystitis Bertrami), und kürzlich hat Teichmann (10) mit H. Braun neue Untersuchungen über die Toxine der Sarkosporidien und über die aktive bzw. passive Immunisierung gegen dieselben veröffentlicht.

Ich folgte bei meinen Versuchen denen Teichmanns, und bediente mich auch dessen Methode, die sich bei der Bestimmung der Giftigkeit der Sarkosporidien vorzüglich bewährt hat. Die Methode von Sabrazès und Muratet, nach welchen der Grad der Giftigkeit nach der Zahl der parasitären Cysten, die bei der Zubereitung des Impfmaterials verwendet werden, geschätzt wird, bietet sicherlich nicht die Garantie der Genauigkeit, wie die von Teichmann. Diese Methode besteht darin, daß man den Inhalt der parasitischen Cysten während 24 Stunden im Vakuumexsikkator austrocknet; das ausgetrocknete Material wird in einem sterilisierten Porzellanmörser zu einem feinen, graugelblichen Pulver zerrieben. Der Grad der Toxizität wird nach der kleinsten Gewichtsquantität dieses Pulvers, welche das Tier tötet, gemessen. Das Material kann entweder als Glyzerinextrakt oder als Wasserextrakt oder in Kochsalzlösung eingeimpft werden. Ich habe diese letztere Methode vorgezogen, da in der Mehrzahl der Fälle das Material intravenös eingeimpft wird. Diese Emulsion habe ich, wie folgt, vorbereitet: 0,01 g von Sarkosporidien-Trockensubstanz wird in 10 ccm steriler Kochsalzlösung genau emulsioniert; die Emulsion wird dann 2—3 Stunden lang in den Schüttelapparat gestellt. Falls eine geringe Quantität geimpft werden soll (z. B. 0,0001 g), wie es bei Tieren, die für das Toxin sehr empfänglich sind, nötig ist, setzt man 1 ccm der Emulsion auf 9 ccm Kochsalzlösung zu; 1 ccm dieser Flüssigkeit entspricht 0,0001 g der Sarkosporidien-Trockensubstanz, in 1 ccm Kochsalzlösung emulsioniert.

* * *

Die Tiere, die ich bei meinen Versuchen verwandte, um die Empfänglichkeit und den Grad derselben gegen Sarkosporidin festzustellen, sind Ziegen, Schafe, Kaninchen, Meerschweinchen, Mäuse und Sperlinge. Das Tier, das im Verhältnis zu seinem Gewicht am meisten Empfindlichkeit für die giftige Wirkung gezeigt hat, war, wie auch schon Teichmann festsstellte, das Kaninchen. Aber während letzterer als Dosis letalis minima die Quantität von 0,0002 g von Sarkosporidientrockensubstanz bei intravenöser Impfung angibt, habe ich immer bei Kaninchen, deren Gewicht 4 Pfd. betrug, den Tod mit 0,0001 g hervorgerufen; die Dosis von 0,00005 g auf intravenösem Wege geimpft, rief mehr oder weniger deutliche Erscheinungen hervor, je nach der individuellen Sensibilität des Kaninchens, aber dieses wird nicht getötet.

Die echten Vergiftungserscheinungen mit Sarkosporidien zeigen sich 4—8 Stunden nach der Impfung; ihr Anfang wird durch Stumpfwerden gekennzeichnet. Letzteres wird immer intensiver, bis zuerst die lokalisierten, nachher die allgemeinen paralytischen Symptome sich zeigen. Diese Erscheinungen sind von Steigerung der Körpertemperatur (40—40,5° C) und von starker Diarrhöe begleitet; die paralytischen Erscheinungen verschlimmern sich rasch; die Tiere gehen 1—3 Stunden nach dem Auftreten der Krankheit zugrunde. Tetanische Symptome habe

ich nicht beobachtet. Während Pfeiffer erklärte, daß die sterbenden Tiere ein dem Tetanus ähnliches Bild zeigen, habe ich dieses nicht gefunden. Teichmann jedoch teilt die Pfeiffersche Ansicht; er erklärte aber, daß er die giftigen Erscheinungen bei den Tieren nicht genau verfolgen konnte, weil die von ihm geimpften Tiere meistens während der Nacht verendeten.

Das Krankheitsbild der Sarkosporidinvergiftung, das vorwiegend durch Beweglichkeitsstörungen charakterisiert ist und das Fehlen sichtbarer anatomischer Veränderungen bestätigen die Ansichten von Prowazek, Rievel und Behrens, daß Sarkosporidin den Zentralnervenapparat beeinflußt.

Teichmann hat in Schnitten von Rückenmark und Gehirn eines infolge der Sarkosporidinimpfung verendeten Kaninchens die perivaskuläre Infiltration festgestellt, die derjenigen ähnlich war, die Landsteiner und E. Popper in einem Falle von Myelitis acuta bei einem Affen beobachtet haben.

Teichmann selbst teilt mit, daß E. Rodewalt an den vorderen Hörnern des Rückenmarkes eines Kaninchens, das mit Sarkosporidin geimpft war, auf ähnliche Veränderungen hingewiesen hat, wie sie das Rückenmark von Tieren, die infolge der Tetanusinfektion zugrunde gegangen sind, aufweist.

Schnitte von Rückenmark und Gehirn der Kaninchen, die nach der Impfung einer starken Dosis der Sarkosporidientrockensubstanz gestorben sind, die ich angefertigt und mit Hämatoxylin nach Delafield und mit Eosin gefärbt habe, zeigen keine Veränderung.

Da am Zentralnervensystem der an der Tetanusinfektion zugrunde gegangenen Tiere keine charakteristische Veränderung sichtbar ist, darf man bei der Sarkosporidinvergiftung nicht von spezifischen Veränderungen sprechen.

Teichmann behauptete, Erscheinungen einer chronischen spezifischen Vergiftung bei einem Kaninchen beobachtet zu haben, welches mit einer Emulsion des Rückenmarkes eines Kaninchens geimpft war, das an Impfung mit Sarkosporidienextrakt verendet war; solche Erscheinungen bestanden in Verminderung des Gewichtes und in einem nekrotischen Prozeß der Rückenhaut.

Ich habe bei zwei Kaninchen, die mit Emulsion des Rückenmarkes eines Kaninchens — das nach der intravenösen Impfung einer starken Dosis (0,001 g) Sarkosporidientrockensubstanz verendete — intravenös geimpft waren, weder eine unmittelbare noch mittelbare Erscheinung beobachten können. Beide Kaninchen waren 2 Monate lang am Leben geblieben, ohne daß man eine Verminderung des Gewichtes oder kutane Veränderungen beobachten konnte.

Von anderen Tieren, die ich geimpft habe, zeigt der Sperling für Sarkosporidin eine bedeutende Empfänglichkeit. Dieses Tier wurde durch 0,00005 g Sarkosporidientrockensubstanz getötet. Meerschweinchen und weiße Mäuse sind refraktär; bei den Meerschweinchen ist die intracardiale Impfung von 0,01 g Sarkosporidientrockensubstanz ganz unschädlich.

Bei dem Schafe beobachtete ich infolge intravenöser Einspritzung von 0,01 g Sarkosporidientrockensubstanz eine auffallende Temperatursteigerung (40,9° C), die aber nur von einer unbedeutenden Appetitlosigkeit begleitet war. Bei einer zweiten Impfung (0,02 g) beobachtete

ich nochmals eine, zwar allerdings primäre, Temperatursteigerung als früher, aber keine andere Erscheinung.

Auch die Ziege zeigte nur thermische Reaktion (40,5° C) nach einer intravenösen Impfung von 0,001 g Sarkosporidientrockensubstanz.

Einige Eigenschaften des Sarkosporidins.

Tenazität. Gegen höhere Temperaturen ist das Sarkosporidientoxin sehr empfindlich. Nach Laveran und Mésnil wird die Giftigkeit des Sarkosporidienextraktes durch eine Temperatur von 58° C nach 10 Minuten vernichtet. Die Temperatur von 70° C macht Sarkosporidin in 5 Minuten unschädlich. Eine Temperatur von 100° C tötet das Toxin rasch ab. Teichmann bestätigt die Laveran-Mésnilschen Ergebnisse. Ich konnte ebenfalls beobachten, daß eine Emulsion von Sarkosporidientrockensubstanz in Kochsalzlösung, die im Wasserbade bei 58° C gehalten wird, nach 10 Minuten ihre Giftigkeit verloren hatte. Eine dreifache Menge der Dosis letalis minima Kaninchen einverleibt, war nicht giftig. Eine Temperatur von 100° C vernichtet in 1 Minute die Toxizität der Emulsion. Gegen Austrocknen ist das Sarkosporidientoxin sehr widerständig. Wird der Inhalt der parasitären Bläschen im Vakuumexsikkator 24 Stunden lang getrocknet, so zeigte er nach 5 Monaten dieselbe Toxizität wie die frische Sarkosporidiensubstanz.

Hämolytische Wirkung. Schon Teichmann hatte festgestellt, daß das Sarkosporidin keine hämolytische Wirkung auf Kaninchen- oder Hammelblut ausübt; dieselben Ergebnisse erzielte ich bei Anwendung der Blutkörperchen nicht nur des Kaninchens und des Hammels, sondern auch des Pferdes, wie aus folgender Tabelle hervorgeht:

1. Kaninchenblut.

Blutkörperchen	Sarkosporidien-trockensubstanz	Hämolyse
2 ccm	0,01 g	—
2 „	0,02 „	—
2 „	0,04 „	—
2 „	0,05 „	—

2. Hammelblut.

Blutkörperchen	Sarkosporidien-trockensubstanz	Hämolyse
2 ccm	0,01 g	—
2 „	0,02 „	—
2 „	0,04 „	—
2 „	0,05 „	—

3. Pferdeblut.

Blutkörperchen	Sarkosporidien-trockensubstanz	Hämolyse
2 ccm	0,01 g	—
2 „	0,02 „	—
2 „	0,04 „	—
2 „	0,05 „	—

Versuche über Anaphylaxie. Sehr interessant war es, zu untersuchen, ob beim Meerschweinchen, das gegen Sarkosporidin sehr widerstandsfähig ist, anaphylaktischer Shock hervorzurufen war. Zuerst habe ich 2 Meerschweinchen 0,02 g Sarkosporidientrockensubstanz intracardial eingeimpft. Infolge dieser Impfung habe ich keine Wirkung beobachtet. Nach 20 Tagen impfte ich mit derselben Menge von Sarkosporidin auf intracardialem Wege diese beiden Meerschweinchen und ein drittes, welches als Kontrolltier diente. Eines der ersten Meerschweinchen ging bald nach der Impfung zugrunde, während das zweite das typische Bild des anaphylaktischen Shocks zeigte (Kratzen mit den Vorder- und Hinterfüßen, Beweglichkeitsstörungen [Manege], unwillkürliche Kot- und

Harnentleerung). Das Kontrolltier blieb ganz gesund. Bei einem 2. Versuche impfte ich 2 Meerschweinchen mit 0,02 g Sarkosporidientrockensubstanz. Nach 18 Tagen erhielten diese Meerschweinchen und ein drittes (Kontrolle) dieselbe Menge des Materials. Die beiden ersten Meerschweinchen zeigten charakteristische anaphylaktische Erscheinungen, während das Kontrolltier keine Störung erlitt.

Auch bei der Ziege (die Ziege, die Immunserum lieferte [s. u.]) habe ich typische anaphylaktische Shocks bei der 4. und 5. intravenösen Impfung von Sarkosporidin beobachtet.

Aktive und passive Immunisierung.

Wenn man Kaninchen mit progressiven Dosen von Sarkosporidin intravenös oder intraperitoneal impft, so werden sie auch gegen die Impfung einer größeren als 10-fachen Menge der Dosis letalis minima unempfindlich. Ein trächtiges Kaninchen erhielt in die Ohrvene 0,00005 g Sarkosporidientrockensubstanz; nach dieser Impfung zeigte das Tier leichte Vergiftungserscheinungen (Temperatursteigerung [40° C]), und erlitt einen Arbortus. Nach einigen Tagen wurde das Kaninchen mit derselben Dosis wieder intravenös geimpft, worauf das Tier keine Störung zeigte, es ertrug dann bei einfachem Fieber die intravenöse Impfung von 0,00015 g. Die folgende intravenöse Impfung erzeugte leichtes Stumpf werden und Temperatursteigerung (41°). 8 Tage nach der letzten Impfung wurden 0,0002 g in die Ohrvene geimpft; nach ungefähr 48 Stunden traten bei dem Tiere schwere Vergiftungssymptome (tiefe Abstumpfung, verminderte Freßlust, starke Diarrhöe, Abmagerung, jedoch keine paralytischen Erscheinungen; Temperatur = 39,1°) auf. Am nächsten Tage erlangte das Tier seine gewöhnliche Munterkeit und Freßlust wieder. 6 Tage später erhielt es intraperitoneal 0,0002 g und zeigte nur unbedeutendes Fieber (39,9°); nachher wurden in der Zeit von 3—4 Tagen 0,00025 g, 0,0003 g, 0,0004 g, 0,0005 g, 0,0007 g intraperitoneal eingeimpft, dann 0,0004 g in die Ohrvene, ohne daß wesentliche krankhafte Erscheinungen auftraten; in den folgenden Tagen erhielt das Tier 0,0010 g, 0,0015 g, 0,0016 g auf intraperitonealem Wege, ohne Störung zu erleiden. Ein zweites Kaninchen wurde intraperitoneal behandelt. Die anfängliche Menge der Sarkosporidientrockensubstanz, die einverleibt wurde, betrug 0,00005 g; diese Menge wurde allmählich bis auf 0,0008 g erhöht; das Tier zeigte bei der 3. Impfung (0,0002 g) Vergiftungserscheinungen (Temperatur 40,9°, starke Diarrhöe, Appetitlosigkeit, Abmagerung), bei der 4. Impfung (0,0003 g) wurde nur eine Temperatursteigerung (40°) beobachtet. Die folgenden Impfungen mußten unterbrochen werden, weil das Kaninchen aus dem Käfig gefallen war, und infolge des Bruches der Wirbelsäule verendete.

Passive Immunisierung.

Um ein Immunserum zu gewinnen, benutzte ich eine Ziege, die ich durch progressive Mengen der Sarkosporidientrockensubstanz intravenös geimpft habe. Die Zwischenzeit zwischen den verschiedenen Impfungen betrug etwa 7 oder 8 Tage. Zuerst wurde in die linke Halsvene der Ziege 0,01 g Sarkosporidientrockensubstanz geimpft, die 2. und 3. Impfung betrug noch 0,01 g; bei der 4. und bei der 5. wurden bzw. 0,03 g geimpft. Während der ersten 4 Impfungen wurde, abgesehen von einer Temperatursteigerung, keine Störung bei der Ziege beobachtete. 15 Tage nach der 4. Impfung wurde das Serum aus der Ziege gewonnen. 5 ccm

dieses Serums wurden einem Kaninchen (No. 1: Gewicht 2855 g) und 3 ccm einem 2. Kaninchen (No. 2: 1650 g) subkutan einverleibt. Eine Stunde später wurden dem Kaninchen I 0,0002 g Sarkosporidientrockensubstanz intravenös eingeimpft, beim 2. Kaninchen wurde dieselbe Dosis von Sarkosporidien intraperitoneal eingeimpft, sowie bei einen 3. Kaninchen (No. 3, Kontrolle, 1715 g) intravenös. Während letzteres 4 Stunden nach der Impfung tot aufgefunden wurde, zeigte Kaninchen No. 1 7 Stunden nach derselben Impfung nur Abstumpfungserscheinungen, aber weder Temperatursteigerung noch paralytische Symptome. Trotzdem wurde das Tier am nächsten Tage früh tot aufgefunden; die Temperatur der Leiche war derart, daß der Tod kurze Zeit vorher eingetreten war. Kaninchen II blieb bis zum nächsten Tage munter. Da ich vermutete, daß bei diesem Tier kein Vergiftungsprozeß, abgesehen von der schützenden Wirkung des Serums, stattgefunden habe, weil das Toxin intraperitoneal geimpft war und somit keinen eigenen giftigen Einfluß entfalten konnte (wie früher schon bemerkt), impfte ich intravenös dem Kaninchen 0,0002 g Sarkosporidientrockensubstanz ein. Das Tier verendete 3 Stunden nach der Impfung. Ich schloß daraus, daß die Menge von 5 ccm des Serums imstande ist, den Tod eines Kaninchens, das mit 0,0002 g Sarkosporidientrockensubstanz geimpft ist, zu verzögern; eine Menge von 3 ccm schützte ein Kaninchen nicht gegen die toxische Wirkung des Sarkosporidins. Ich impfte dann 4 Kaninchen, und zwar 2 von denselben (IV u. V) mit 5 ccm Serum und 2 (VI u. VII) mit 10 ccm; Anstatt nach 1 Stunde wurde Sarkosporidin aber 24 Stunden später einverleibt. 3 Kaninchen verendeten mit bedeutender Verspätung im Vergleich zum Kontrolltier (VIII), das 6 Stunden nach der Impfung zugrunde ging; das 4. Kaninchen überlebte. Die Schutzkraft des Serums war also zweifelhaft; diese Tatsache veranlaßte mich, eine höhere Dosis der Sarkosporidientrockensubstanz (0,05 g) der Ziege einzuimpfen. Diese zeigte, wie schon erwähnt, anaphylaktische Shocks. Das Serum wurde 16 Tage nach der Impfung entnommen; damit impfte ich 3 Kaninchen, und zwar 2 (IX u. X) mit 10 ccm und 1 (XI) mit 5 ccm. Das Toxin (0,0002) wurde nach 24 Stunden bei diesen 3 und einem 4. (Kontrolle XII) intravenös geimpft. Kaninchen IX zeigte am Abend Temperatursteigerung (40 °), blieb aber munter; am nächsten Tage erhielt es nochmals eine intravenöse Impfung mit Sarkosporidientrockensubstanz (0,0002 g). Am 3. Tage hatte es Durchfall, bewahrte aber seine gewöhnliche Munterkeit; in der folgender Zeit magerte es aber allmählich ab, bis es nach 10 Tagen verendete. Kaninchen X zeigt erst 2 Tage nach der Toxinimpfung Abstumpfungserscheinungen und Durchfall, die aber nicht von paralytischen Symptomen begleitet waren; am nächsten Tage war das Tier wieder munter. Das Kaninchen XI verendete ungefähr 24 Stunden nach der Toxinimpfung. Das Kontrolltier ging schon 6 Stunden nach der Impfung zugrunde. Von 2 anderen Kaninchen (XII u. XIII), die mit 10 ccm Serum behandelt wurden (XII), überlebte eins nach der Toxinimpfung; das andere verendete nach 7 Stunden, das Kontrolltier aber 4 Stunden nach der Toxinimpfung. Ich hielt es daher für nötig, die Menge des Serums zu erhöhen. Ein Kaninchen (XIV) erhielt 15 ccm Serum, ein anderes (XV) 20 ccm; letzteres zeigte infolge der Toxinimpfung keine Erscheinungen; das erste zeigte nur leichte, vorübergehende Mattigkeit; das Kontrolltier ging 6 Stunden nach der Toxinimpfung zugrunde.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß das Serum der Ziege, die mit Sarkosporidin behandelt ist, dem Kaninchen, wenn dieses mit einer

Menge von 20 ccm subkutan geimpft wird, Immunität gegen eine tödliche Dosis der Sarkosporidientrockensubstanz verleiht.

Für sehr interessant hielt ich es, an dieser Stelle festzustellen, ob das Serum eine präzipitierende Wirkung gegen eine Emulsion der Sarkosporidientrockensubstanz entfaltete. Zu diesem Zwecke stellte ich eine Emulsion der Sarkosporidientrockensubstanz in physiologischer Kochsalzlösung her. Diese Emulsion wurde dann in 10 kleine Reagensgläser in der Menge von 2 ccm gegossen. Jedem Reagensglas wurden dann resp. $^1/_{10}$—$^2/_{10}$—$^4/_{10}$—$^6/_{10}$—$^8/_{10}$—1 ccm hinzugefügt. Als Kontrolle dienten 6 Reagenzgläser, von denen jedes 2 ccm Emulsion; enthielt hier fügte ich resp. $^1/_{10}$—$^2/_{10}$—$^4/_{10}$—$^6/_{10}$—$^8/_{10}$—1 ccm normales Ziegenserum hinzu. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt:

Emulsion der Sarkosporidientrockensubstanz	2 ccm	2 ccm	2 ccm	2 ccm	2 ccm	2 ccm	2 ccm
Immunserum	$^1/_{10}$ —	$^2/_{10}$ —+	$^4/_{10}$ +	$^6/_{10}$ +	$^8/_{10}$ ++	1 ccm ++	(Kontrolle) —
Normalziegenserum	$^1/_{10}$ —	$^2/_{10}$ —	$^4/_{10}$ —	$^6/_{10}$ —	$^8/_{10}$ —	1 ccm —	

— Negativ, —+ geringe Reaktion, ++ starke Reaktion.

Die folgenden Untersuchungen (siehe Versuchsprotokoll) beweisen, daß die dem Immunserum eigene Schutzwirkung nicht lange Zeit anhält, weil es bei 4 Kaninchen eine sehr geringe Schutzfähigkeit gegen Sarkosporidin enfaltete.

Schlußfolgerungen.

1) Die Sarkosporidien (Sarcocystis tenella) enthalten einen giftigen Stoff (Sarkosporidin), der bei Kaninchen und Sperlingen bedeutende toxische Wirkungen ausübt.

2) Die Dosis letalis minima der Sarkosporidientrockensubstanz beträgt für Kaninchen 0,0001 g.

3) Das Krankheitsbild der Sarkosporidinvergiftung ist vorwiegend durch paralytische Erscheinungen charakterisiert.

4) Es ist möglich, bei Meerschweinchen, die gegen die toxische Wirkung des Sarkosporidins überhaupt widerstandsfähig sind, durch wiederholte Impfungen anaphylaktische Shocks zu erzeugen.

5) Es ist möglich, bei Kaninchen durch Impfung progressiver Dosen von Sarkosporidientrockensubstanz aktive Immunisierung zu erzielen.

6) Durch Behandlung mit einer Reihe intravenöser Impfungen von Sarkosporidientrockensubstanz liefert die Ziege ein Immunserum. Die Wirksamkeit dieses Immunserums ist aber wenig dauerhaft.

Literatur.

1) Pfeiffer, L., Die Protozoen als Krankheitserreger. Jena (G. Fischer) 1890.
2) Laveran, A. et Mésnil, F., De la sarcocystine toxine des Sarcosporidies. (Compt. Rend. d. la Soc. Biol. T. LI. 1899. No. 14.)
3) Smith, Th., The Production of Sarcosporidiosis in the Mouse by Feeding infeccted muscular Tissue. (Journ. exper. Med. Vol. 6. No. 1.)
4) Negri, A., Beobachtung über Sarkosporidien. I. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. p. 56); II. Ibid. Bd. 47. p. 612. III. (Ibid. Bd. 55. p. 1373.)

5) Rievel und Behrens, Beiträge zur Kenntnis der Sarkosporidien und deren Enzyme. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. p. 341.)
6) Erdmann, Rh., Beiträge zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Hammelsarkosporidien in der Maus. (Centralbl. f. Bakf. Abt. I. Orig. Bd. 53. p. 510).
— —, Kern und metachromatische Körper bei Sarkosporidien. (Arch. f. Protistenk. Bd. 20. 1910. p. 239.)
— —, Die Entwicklung der Sarcocystis muris in der Muskulatur. (Sitzungsber. d. Gesellsch. Naturforsch. Freunde. 1910. No. 8.)
7) Betegh, L., Beiträge zum Entwicklungsgange der Sarkosporidien. (Centrabl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. p. 566.)
8) Teichmann, E., Ueber das Gift der Sarkosporidien. (Arch. f. Protistenk. Bd. 20. 1910. p. 97).
9) Sabrazès, S. et Muratet, L., Toxicité des pulpes glycerinées des Sarcosporidies du cheval. (Compt. Rend. Soc. d. Biol. T. 70 p. 661.)
10) Teichmann, E. u. Braun, H., Ueber ein Protozoentoxin (Sarkosporidiotoxin). (Arch. f. Protistenk. Bd. 22. 1911. p. 351.)

Nachdruck verboten.

Studies on fowl cholera: II. Active immunity in rabbits[1]).

By **Philip B. Hadley.**

Contents.

I. Historical Résumé.
II. Experiments.
1. Original observations showing the protective value of Culture 52. Repetition of original experiment (Expt. 1, Tables 2 and 3).
2. Comparison of the protective values of Cultures 16 and 52 (Expt. 2, Table 4).
3. The question of "local immunity" (Expt. 3, Tables 5 and 5a).
4. Protection through intraperitoneal inoculations of Culture 52 (Expt. 4, Table 6).
5. The amount of Culture 52 required in order to produce resistance (Expt. 5, Table 7).
6. The M. L. D. of Culture 48 for rabbits protected by the inoculation (subcutaneous) of 2 c. c. of Culture 52 (Expt. 6, Table 8).
7. The time of appearance of resistance in rabbits protected by inoculation with Culture 52 (Expt. 7, Table 9).
8. The duration of resistance in protected rabbits (Expt. 8, Table 10).
9. The result of the simultaneous inoculation of Cultures 52 and 48 (Expt. 9, Table 11).
10. The protective value of attenuated (heated) and of killed cultures (Expt. 10, Tables 12 and 12a).
11. The inheritance of resistance against infection with Culture 48 (Expt. 11, Table 13).
12. The protective value of Culture 52 for guinea pigs (Expt. 12, Table 14).
13. The protective value of Culture 52 for rats (Expt. 13, Table 15).
14. The protective value of Culture 52 for pigeons (Expt. 14, Table 16).
15. The protective value of Culture 52 for fowls (Expt. 15, Tables 17 and 17a).
16. The protective value of Culture 52 against other virulent cultures than Culture 48 (Expt. 16, Table 18).
III. Conclusion.
IV. Summary.
V. Literature cited.

In an earlier number of this journal[2]), the writer presented the main results of a study of the cultural features and variations in virulence of ten strains of the fowl cholera organism. It was stated in that paper that active immunity to a highly virulent strain of the fowl cho-

1) Contribution No. 17 from the Division of Biology of the Agricultural Experiment Station of the Rhode Island State College, Kingston, R. I., U. S. A.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1911. Heft 4/5.

lera bacterium had been produced in rabbits by subcutaneous inoculation with a nearly avirulent, so-called homologous culture. The aim of the present communication is to give, in brief form, further data on the nature of this resistance, especially in rabbits.

I. Historical Résumé.

Since the earliest studies by Perroncito (1878), Toussaint (1879) and Pasteur (1880) upon the fowl cholera organism, many investigators have attempted to produce active or passive immunity in several species of animals, and especially in fowl, pigeons, rabbits, and mice. A part of these researches have involved primarily the practical aspect of the matter, while a smaller number of studies have been regarded merely as a means of furthering immunological problems of wider significance. Both phases of the investigations have, however, contributed largely to that body of knowledge which necessarily underlies the formulation of successful therapeutic measures. The following paragraphs give a brief account of the most important studies which have been conducted.

Although fowl cholera was studied by Perroncito (1878) and Toussaint (1879), Pasteur (1880) was the first to make use of attenuated cultures of the fowl cholera organism for the production of immunity in fowls. In this case, the virulent culture was found to become attenuated after several months' exposure to atmospheric air. Pasteur stated that an exposure for two months determined a complete loss of virulence, while exposure for shorter periods caused proportionate degrees of attenuation. Thus Pasteur possessed vaccines of two grades ("premier and deuxième vaccin"); and these, when inoculated successively under the skin of the breast in fowls, protected many of the birds so-treated against subsequent inoculations of the unattenuated culture. Sometimes, according to Pasteur, it was necessary to inoculate the fowls two or three times with increasing doses of the attenuated cultures in order to secure lasting protection. In most of these cases, the inoculation caused varying degrees of necrosis in the pectoral muscles, and the birds frequently became ill. Pasteur was not able to immunize, by this method, either rabbits or small birds.

Kitt after repeating Pasteur's work, that is, using on fowls the first and second vaccine, denied that the method of Pasteur had any practical value. All of Kitt's protectively-inoculated birds died. Kitt, furthermore, pronounced this method of inoculation dangerous because of the possibility of further disseminating the virulent organism.

Cagny (1885) also repeated Pasteur's experiments, using in one lot, sixty-three fowls, in another, thirty-six. He employed the two vaccines of Pasteur, the second being given twelve days after the first. The result was that seventeen of the first flock died and ten of the second flock. Hess (1885) in a similar attempt met with similar results.

Kitt (1903) was probably the first to make use of an immune serum for fowl cholera. This he obtained from the blood of immune fowls and it was stated to have a protective value. This was, however, slight.

Kitt and Mayer (1898) also obtained from horses which had received intravenous inoculations with a virulent fowl cholera culture, a serum which, in amounts of 2 to 20 c. c. was said to protect rabbits; and in amounts of $^1/_4$ to $^1/_2$ c. c. to protect mice. Many animals, however, succumbed and the method could not be called successful. It failed, also, to produce any resistance in fowls.

Kitt (1903), after further experimentation, secured from rabbits a serum of which $^1/_2$ to 3 c. c. sometimes protected rabbits and mice against inoculations with virulent cultures, and which, in a few cases protected fowls and pigeons. Finally Kitt obtained from horses (after subcutaneous inoculation of virulent cultures) a serum of which 2 to 5 c. c. appeared to protect rabbits, geese, ducks, fowls, and occasionally pigeons. This immunity endured for about two weeks. According to Weil (1905) these results are open to doubt. Kitt did not ascertain whether this passive immunity could, by the inoculation of virulent material, be transformed into active immunity [1]).

Other attempts to produce passive immunity in fowls have been made by Lignières, Schreiber, Klett and Braun, and others, but in no attempt has complete success been attained.

Foà and Bonomè (1888) attempted to produce immunity in the rabbit by the inoculation of bouillon filtrates, either alone, or combined with subcutaneous inoculations. This attempt was not successful.

1) See in this connection Schöbl (1909).

Huntemüller (1906) affirmed that he had immunized rabbits by means of cholera cultures killed by heating at 44° C. This degree of heat did not harm the "immunizing substance".

Voges (1896) attempted to secure immunity in rabbits by inoculating cultures which had been killed by chloroform. Many of the animals so treated succumbed, but those which survived, showed a slight resistance.

Besides the cases mentioned above, several other sera have been prepared from time to time, some of them commercially. These include the sera of Jess and Piorkowski, of Niebel and Hoffman and of Schreiber. None of these, however, have eventually appeared to afford effective protection. The serum of Lignières could not be demonstrated as surely protective, and the serum of Leclainche and Nocard, although prolonging the life of mice, produced no actual protection, in either rabbits or fowls.

Weil (1905) was probably the first to produce actual immunity in rabbits to the organism of fowl cholera. His results are published in a series of excellent monographs (1905, 1905a, 1907, 1908, 1909)[1]), and altogether confirm the results of Bail (1905), who established through his work on typhus and cholera the aggressin-theory of immunity. Weil's results were secured as a result of experimentation on rabbits and guinea pigs. Weil assumed the presence of aggressins in the pleural exudate of rabbits, previously inoculated in the pleural cavity with one drop of bouillon culture mixed with 5 c. c. of sterile bouillon. After centrifuging and sterilizing this exudate, Weil inoculated guineapigs with it subcutaneously. Some of these animals were inoculated at the same time with a sub-lethal dose of bouillon culture of the cholera organism. From these tests, it appeared that the animals which received the exudate alone, or the culture alone, experienced no visible reaction, while those receiving the exudate plus the living culture died in twenty-four hours or less, thus indicating the "sensitizing" action of the exudate. Weil also demonstrated that guinea-pigs, infected with a sub-lethal dose of living culture died when they were inoculated eight days later with the aggressin-containing rabbit exudate. This circumstance Weil explained on the ground that the organisms remained alive in the old lesion until after the inoculation of the exudate, and this was demonstrated by cultural and histological methods.

Next, Weil undertook to produce immunity in rabbits by inoculation with the aggressins, with the idea of forming "antiaggressins". The following method gave successful results:

At the beginning $^1/_2$ c. c. sterilized rabbit exudate inoculated subcutaneously.
After 8 days, $1^1/_2$ c. c. rabbit exudate inoculated subcutaneously.
„ 8 „ 3 c. c. „ „ „ „
„ 14 „ infection with $^1/_{10}$ oese of living culture. An infiltrate resulted, reabsorbed.

This experiment was repeated with several variations in the time of inoculation, or in the amounts injected, and it was definitely shown that rabbits were thus protected by 3 c. c. of sterilized exudate, not only against the living cultures of bacteria, but also against a large amount (1.5 c. c.) of unsterilized exudate. In the latter case, however, an infiltration with consequent abscess-formation and drainage followed. In concluding his experiments, Weil appears to have successfully immunized a fowl and pigeons by the same method. In the investigation reported, Weil made no use of attenuated cultures.

Somewhat later, Weil (1905a) reported the results of investigations as certaining the degree of passive immunity that could be secured by the inoculation of serum of animals actively immunized with sterilized, aggressin-containing, pleural exudate from rabbits; and secondarily, showing whether the resistance of immunized animals is due, to any extent, to an increased phagocytosis. Regarding the first point, Weil was able to show that from animals which were immunized by means of successive inoculations of sterilized pleural exudate, a serum could be obtained which protected mice in amounts of $^1/_{10}$ c. c., and rabbits in amounts of $^1/_2$ to 1 c. c. Favorable results were not secured, however, when the serum was used in pigeons and other birds. The same serum protected rabbits and mice when it was given simultaneously with the infection, but not when it followed infection. Regarding the second point, Weil concluded that there was no evidence of bacteriolysis or phagocytosis in the immunized animals. Sulima (1909), however, who repeated some of Weil's experiments, found that phagocytosis was present in immunized animals, but only to a slight degree.

In subsequent papers, Weil (1907, 1908, 1909) presents further data supporting the aggressin-theory of immunity with special reference to fowl cholera. Many of his

1) Weil and Braun (1909).

later writings are of a controversial nature, and in them he maintains that the action of aggressins and of the bacterial extracts of Citron and Pütz[1]) are by no means the same; furthermore, that aggressin-immunity is not dependent upon bactericidal or bacteriolytic properties of the blood serum.

In 1907, Citron and Pütz, working with serum-extracts and with water-extracts of cholera cultures, secured, in the case of rabbits, mice and pigeons, results which they interpreted as identical with those obtained by Weil when he used for immunization the natural pleural exudates. Although some resistance was undoubtedly produced in rabbits by the method of Citron and Pütz, the results in pigeons (as was also the case with Weil) were far from satisfactory, since these birds were not protected unless three successive doses of the homologous serum-extract were injected; and even then the results reported do not include a sufficient number of cases to justify a conclusion in favor of the method as applied to pigeons and other birds.

The efforts of Citron und Pütz to secure passive immunity in mice and pigeons resulted in their concluding that such immunity was produced by the employment of serum obtained from rabbits which had received first, serum extracts, then small doses of living culture. It is difficult to see, however, that anything more than a slight resistance was produced, since the treated mice that survived subsequent infection received only $^1/_{10\,000}$ to $^1/_{1\,000\,000}$ oese of virulent culture, which was only a few thousand times the minimum lethal dose; and only one pigeon, from a lot of four treated with immune serum, survived subsequent infection. This certainly indicated that the resistance in both rabbits and pigeons, to even small amounts of virulent culture, was very slight, and could scarcely be correctly designated an immunity.

Sulima (1909) studied the method of Weil (1905) and also that of Citron and Pütz (1905) for the production of active immunity in rabbits, but with the special purpose of observing the phagocytic function in immune and non-immune animals. Regarding the relative value of the two methods, Sulima concluded that the exudates of Weil were more rich in those substances which enabled the animals to acquire immunity than were the extracts used by Wassermann, Citron and Pütz, and others. Even in the case of animals immunized by Weil's method, however, about 5 per cent succumbed to the inoculation of 1 c. c. of the peritoneal exudate from a rabbit which died after intraperitoneal infection.

Sulima (op. cit.) also studied, by successive examinations of the peritoneal and subcutaneous exudates of infected, immune and non-immune animals, the status of the phagocytic function. He concluded, contrary to the opinion of Weil, that phagocytosis plays a certian rôle in protecting the immunized animals; und that, although the bactericidal power of the blood-serum is not appreciably raised, the opsonic power in immune animals is slightly augmented. In these respects, immunized animals differed in their reactions from the non-immune. Sulima was inclined to believe that it was only under the protection of certain „humoral factors" that the leukocytes could do their share of work in preventing a general infection.

Schöbl (1909), assuming with Weil (1907) and others that active immunity in fowl cholera cannot be explained on the basis of the bactericidal action of the body fluids, and hence that immune sera do not work through their bactericidal properties, attempted to ascertain whether active immunity arises through a serum-bacteria inoculation, that is to say, by a „serum-simultaneous" method. Mice, which were infected with living cultures and at the same time received a quantity of immune serum, were not lastingly protected. Subsequent inoculations of cultures (after twenty-seven to forty-five days) proved fatal, and Schöbl concluded that no active immunity had been produced by this means.

Sizoff (1910), in a paper of which the present writer has been able to see only a brief review, states that he has been able to produce, from bullocks immunized with living cultures of fowl cholera bacteria, an efficient polyvalent serum. This serum, in amounts of from 2 to 5 c. c. is said to protect pigeons, rabbits and fowl. It is reported to have given valuable results when tested in numerous epidemics among several varieties of poultry.

Although not working with fowl cholera, the investigations of Shoukevitch (1910), dealing with the attempt to secure in rabbits immunity to Bacillus suipesticus, another organism belonging to the fowl cholera group, are suggestive. Shoukevitch attempted to immunize rabbits by inoculation with both dead and living cultures of the organism. Cultures were killed by heating to 60° C for thirty minutes and then inoculated four to six times, at 8-day intervals. Although antibodies were formed as a result of these inoculations, the animals were not protected by them against the inoculation with a virulent culture ($^1/_{100}$ of Shoukevitch's culture „S. P."). Next

1) Vide infra.

Shoukevitch attempted to immunize by the inoculation of living cultures. The inoculation of $^1/_{50}$ of his culture „S." (slight virulence) or of $^1/_{500}$ of culture „S. P." (high virulence), gave infiltrations, sometimes large and severe. Upon testing these animals with $^1/_{100}$ of culture „S. P.", the controls and one of the fourteen immunized animals died at once. The other thirteen immunized rabbits survived for some time, but all eventually died from paralysis or „intoxication". Thus, though delaying slightly the fatal termination, Shoukevitch concluded that, as in the case of the dead cultures, the inoculation with small amounts of living culture, did not result in the production of immunity. It appeared, however, that even in this case antibodies were present in very small amounts in the blood-serum of the inoculated animals.

During the period embraced in the present historical résumé, many other important studies dealing with immunity in fowl cholera, have been made, but they involve more especially what may be termed the mechanics of the immunizing process within the body of the animal. These papers will be mentioned in a later study dealing with this phase of the subject. Our present knowledge regarding successful immunization in fowl cholera, may now be summed up as follows:

1. Active resistance in rabbits has been produced by means of inoculation with sterilized exudates (Weil, 1905), and by means of bacterial extracts (Citron and Pütz, 1907). In the former case the resistance may be regarded as actual immunity; in the latter case only a moderate degree of resistance was secured.

2. Passive immunity in rabbits has been produced by serum derived from rabbits immunized by Weil's method; and a certain degree of resistance was apparently obtained by Citron and Pütz through the use of serum from rabbits immunized by means of bacterial extracts.

3. In a pigeon and a fowl, Weil was able to produce resistance by means of sterilized exudates, while Citron and Pütz by their method secured a slight resistance in pigeons.

It is thus clear that, whereas rabbits have been successfully immunized, both actively and passively, by means of the methods cited, a high degree of active immunity in rabbits through the exclusive use of living bacterial vaccines, has not been secured, active immunity in fowls has not been sufficiently demonstrated, and passive immunity has not yet been attained[1]).

II. Experimental work.

In previous papers published by the writer (1911), and by Hadley and Amison (1911), the results of a partial biological study of ten cultures of the fowl cholera organism were reported. Among other points, the degree of virulence possessed by the different cultures was tested upon several species of animals, and it was thereby shown that there existed wide differences in the pathogenicity. Nearly all the cultures were pathogenic for pigeons; many were pathogenic for adult rabbits, and a few were pathogenic for guinea-pigs. In general, however, it may be said that the majority of the cultures, although causing local abscesses, possessed but slight virulence at the time of isolation and required inoculation with large amounts and a long period of incubation before fatal results were produced.

One culture, however, could be at once separated from all the others on the ground of its extreme pathogenicity for fowls, pigeons and other domestic poultry, as well as for all laboratory animals; this was Culture 48. No other strain possessed at the time of the investigations more than a small fraction of the virulence of this culture.

During the course of the experiments many rabbits, which had been inoculated with sub-lethal doses of the cholera cultures survived. It was made a point to inoculate these rabbits with a lethal dose of the

1) An exception to this statement may possibly be found in the work of Sizoff (1910), whose work the writer has not yet been able to review in the original. A review states that he has succeeded in producing an efficient method of immunization against fowl cholera (vide supra).

Table 1.
Showing the cultural features and pathogenicity of the cholera cultures.

No. of Organism	16	42	45	46	47	48	50	51	52	54
Gram stain	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
Morphology: Size in micra	0.5	4.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.5	0.5	0.4	0.5
Morphology: Motility	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
Morphology: Spores	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
Cultural features: Bouillon: Clouding	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cultural features: Bouillon: Ring or pellicle	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
Cultural features: Grows in closed arm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cultural features: Grows at 22° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cultural features: Grows at 37° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cultural features: Grows at 42° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Biochemical features: Liquifies: Gelatin	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
Biochemical features: Liquifies: Casein	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
Biochemical features: Milk: Coagulates	|	|	|	|	|	+	|	|	|	|
Biochemical features: Milk: Acidifies	|	|	|	|	|	+	|	|	|	|
Biochemical features: Milk: Reduces	|	|	|	|	|	+	|	|	|	|
Biochemical features: Gas production: Dextrose	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
Biochemical features: Gas production: Saccharose	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
Biochemical features: Gas production: Lactose	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
Biochemical features: Gas production: Mannose	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
Biochemical features: Nitrates reduced	|	|	+	+	|	+	+	+	+	+
Biochemical features: Indol production: Ehrlich method	|	+	|	|	+	|	+	|	|	|
Biochemical features: Indol production: Salkowski-Kitasato	|	+	+	+	+	+	+	+	|	|
Biochemical features: % Acid in Dextrose broth	2.4	2.2	2.3	.	1.5	0.5	1.3	1.4	0.2	2.3
Physical tests: Grows after exposure: 60° C for 15 min.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Physical tests: Grows after exposure: 63° C for 15 min.	|	|	|	|	|	|	|	|	|	|
Physical tests: Drying on glass: Maximum period, in days, observed alive	90	60	90	90	90	4	3	3	3	3
Thermal death point	62°	62°	62°	63°	62°	62°	62°	62°	62°	62°
Disinfectants: % Carbolic acid kills in: 15 min.	1.0	1.0	1.0	1.0	.	0.5	1.0	1.0	0.4	0.9
Disinfectants: % Carbolic acid kills in: 30 min.	0.9	0.9	0.9	0.9	1.0	0.4	0.9	0.9	0.4	0.7
Disinfectants: % Carbolic acid kills in: 1 hours	0.7	0.7	0.7	0.7	0.9	0.4	0.9	0.9	0.3	0.5
Disinfectants: % Carbolic acid kills in: 4 hours	0.5	0.5	0.5	0.7	0.7	0.3	0.7	0.7	0.3	0.5
Pathogenicity: Pigeons: Intramuscular fatal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	·
Pathogenicity: Pigeons: Subcutaneous fatal	·	·	·	·	+	·	·	·	·	·
Pathogenicity: Guinea pigs: Intraperitoneal fatal	·	·	·	·	+	+	+	+	+	+
Pathogenicity: Guinea pigs: Subcutaneous fatal	·	·	·	·	+	?	|	|	|	|
Pathogenicity: Guinea pigs: Subcutaneous, Abscesses	·	+	·	·	·	|	+	+	+	+
Pathogenicity: Rabbits: Subcutaneous fatal	|	|	|	|	+	·	|	|	|	|
Pathogenicity: Rabbits: Subcutaneous, Abscesses	+	+	+	+	·	+	+	+	+	+
Pathogenicity: Rabbits: Intraperitoneal fatal	|	|	+	|	+	|	+	·	|	|
Pathogenicity: Rabbits: Intravenous fatal	·	|	·	·	+	|	·	·	·	|
Pathogenicity: Fowls: Subcutaneous fatal	|	|	·	·	+	|	|	|	+	+
Pathogenicity: Fowls: Intramuscular fatal	+	|	|	|	+	·	|	|	·	|
Pathogenicity: Fowls: Intravenous fatal	·	·	·	·	+	·	·	·	+	+
Pathogenicity: By feeding	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

1) Fatal for young rabbits.

virulent culture, 48, in order to ascertain whether they had acquired any resistance as a result of the previous inoculations with the other attenuated cholera cultures. A series of inoculations with Culture 48 was accordingly made. The result was that practically all the rabbits, including the control, succumbed to the infection. Only two of the previously inoculated rabbits remained alive, and these, it subsequently appeared, had both been inoculated with Culture 52; furthermore, these two rabbits were the only rabbits in the entire group that had been inoculated with this particular strain. These results were so striking that it was decided to confirm this observation if possible, and then to take up a study of the nature of this apparent resistance. This has now been done, and the results of the study, obtained to date, are presented herewith.

Before describing the experiments in detail, some of the data referred to later will be made more clear if there are now mentioned a few general considerations relating to the cultures used, the method of making inoculations, etc.

The cultures employed for inoculation were grown in ordinary bouillon (reaction, + 1) although a more luxuriant growth could be secured in neutral bouillon. The inoculations were usually made in the afternoon between 3 and 4 o'clock since this procedure served to bring the period of fatal issue sometime during the following morning.

The infecting culture used probably possessed an almost maximal virulence for rabbits, although it is suspected that a slight attenuation may have occurred during the later stages of the investigation. At the beginning, the M. L. D. of this culture was ascertained for rabbits, fowls, and pigeons, to be as follows:

M. L. D. for rabbits (subcutaneous) 0.000 000 000 000 000 000 01 c. c.
M. L. D. for pigeons (intramuscular) 0.000 000 000 000 000 000 01 c. c.
M. L. D. for fowls (intramuscular) 0.000 000 000 000 01 c. c.

In addition to the above data, it should be stated that one sextillionth of a cubic centimeter was sometimes fatal to rabbits, and one quadrillionth of a cubic centimeter was occasionally fatal to fowls, but the amounts given in the tabulation could invariably be depended upon to cause death in the animals mentioned. The twenty-first dilution tube, containing one part of the original bouillon culture to one sextillion parts of sterile bouillon was ordinarily sterile [1]).

As shown above, the dilutions of the virulent culture were made in decimal fractions of a cubic centimeter. This appeared to be the most accurate method, and in addition, one which could be employed with cultures of either low or high virulence, thus rendering the results of inoculations more comparable than when fractions of an oese are used. The method of making these dilutions was as follows: As small an amount as possible of a fresh agar culture of Strain 48 was inoculated into a bouillon tube containing 10 c. c. of bouillon. After 48 hours incubation at 38° C, 1 c. c. was removed by means of a sterile standardized 1 c. c. pipette, and placed in a tube containing exactly 9 c. c. of sterile boullion. This tube was well shaken, and 1 c. c. was then transferred to a fresh tube containing 9 c. c. of bouillon. In this manner

1) Vide infra.

a series of tubes was prepared, and from them the desired dilutions were at once inoculated.

A word should be said here, regarding the effect of these dilutions upon the number of bacteria injected. In order to ascertain the exact number of organisms which constituted a minimum lethal dose, counts were made from plates poured from samples of the dilutions inoculated, and at the same time that the inoculations were made. This resulted in showing that, in the highest dilutions which proved fatal, there were seldom present more than four organisms; at least, this is the largest number that developed into colonies on the agar plates.

Experiment 1. Protective value of Culture 52.

After observing the results mentioned above, it seemed possible that the apparent protection of the two rabbits mentioned above by a single dose of Culture 52, might be merely a coincidence; or that there might have been some fault in the technique of inoculation or in the

Table 2.

Showing the method and results of the protective inoculation of two rabbits with Culture 52, together with data on subsequent inoculations.

Rec. No.	Preliminary inoculation with Culture 52			Interim	First inoculation with Culture 48		
	Date	Amount	Result		Date	Amount	Result
504	April 6 '11 [1]	15 minims	No reaction	26 days	May 2 '11	1 10-quadrill. c. c.	Slight infiltration, absorbed
506	April 6 '11 [2]	3 c. c.	Abscess, drainage	26 „	May 2 '11	1 100-quadrill. c. c.	Abscess, drainage, 6/2
512	Control	.	.	.	May 2 '11	1 100-quintill. c. c.	† 22 hours
535	Control						
534	Control						
570	Control						
540 a	Control						
674	Control						
685	Control						

Rec. No.	Second inoculation with Culture 48			Third inoculation with Culture 48		
	Date	Amount	Result	Date	Amount	Result
504	June 2 '11	1 10-quadrill. c. c.	No visible reaction	June 30 '11	1 100-billion. c. c.	No reaction
506	June 9 '11	1 1-trill. c. c.	No visible reaction	June 30 '11	1 10-billion. c. c.	No reaction
512						
535	June 2 '11	1 100-quadrill. c. c.	† 24 hours			
534	June 2 '11	1 10-quadrill. c. c.	† 20 hours			
570	.	.	.	June 30 '11	1 10-billion. c. c.	† 25 hours
540 a						
674						
685						

1) Intravenous.
2) Subcutaneous.

Rec. No.	Fourth inoculation with Culture 48			Fifth inoculation with Culture 48		
	Date	Amount	Result	Date	Amount	Result
504	July 17 '11	1 1-mill. c. c.	No reaction	Aug. 5 '11 [1]	0.1 c. c.	No reaction
506	July 17 '11	0.001 c. c.	Slight infiltration, absorbed	Aug. 5 '11 [2]	0.1 c. c.	Slight temporary infiltration
512						
535						
534						
570						
540 a	July 17 '11	1 1-bill. c. c.	† 15 hours			
674	.	.	.	Aug. 5 '11	1 1-Bill. c. c.	† Less than 21 hours
685						

Rec. No.	Sixth Inoculation with Culture 48		
	Date	Amount	Result
504	Aug. 25 '11	1 c. c.	No reaction
506	Aug. 25 '11	1 c. c.	No reaction
512			
535			
534			
570			
540 a			
674			
685	Aug. 25 '11	1 1-trill. c. c.	† 20 hours

preparation of the cultures. For this reason, the two surviving rabbits (504, 506) were re-inoculated subcutaneously with 10000 and 1000 times the minimum lethal dose, respectively, of Culture 48; control rabbits were also inoculated. Again the two protected rabbits survived without manifesting any symptoms of illness, while the control animals died within 22 hours. The detailed history of the further inoculations and their results, in the two protected rabbits, together with data on the control animals, are presented in Table 2.

A study of the data presented in Table 2 shows that the two rabbits, 504 and 506, received within the period between May 2 and August 25, 1911, six inoculations with the virulent culture, 48. The amounts of culture inoculated varied between one 100-quadrillionth of one cubic centimeter and 1 cubic centimeter. In every case the control animals succumbed to infection with a much smaller amount of culture than that administered to the protected rabbits, which are, at the time of writing, alive and in excellent health [3]). As shown in the table, the inoculation with Culture 48 frequently produced no visible local reaction in these animals.

Next, in order to demonstrate even more conclusively the presence or absence of protective power in the other cholera cultures [4]), another

1) Intraperitoneal.

2) Subcutaneous.

3) On January 25, 1912 rabbit 504, which had developed a severe eye-affection, was bled in order obtain its serum.

4) In the original study of the fowl cholera organisms (Hadley, 1911), ten strains coming from different sources, were investigated and designated XVI, XLII, XLV, XLVI, XLVII, XLVIII, L, LI, LII, LIV. In the present paper, these cul-

test was made. In this case, rabbits first inoculated with these strains were subsequently inoculated with 1-trillionth c. c. of the highly virulent Culture 48 (an amount equivalent to about 100 million times the M. L. D.). It had previously been indicated that the protective inoculation with Culture 52 produced a resistance to at least such an amount of the virulent culture. The inoculations of the avirulent or slightly virulent cultures were made, as in the first instance, beneath the skin of the abdomen, and all produced severe local reactions. Other data regarding these inoculations are supplied in the accompanying table (Table 3).

Table 3.

Showing the effect of inoculating with Culture 48, rabbits previously inoculated with Cultures 16, 42, 45, 46, 47, 50, 51, 52 and 54.

Rec. No.	Preliminary subcutan. inoculation with 2 c. c. of Culture			Infection with 1-trillionth c. c. of Culture 48		
	Culture No.	Date	Result	Date	Result	Period
		1911		1911	1911	
608	16	July 17	Abscess size of a half-dollar; drainage	Aug. 11	† Aug. 12	About 18 hrs.
609	42	„	Abscess size of a cent; drainage	„	† „	„
610	45 [1])	„	† July 22, 1911	.	See Rec. 651	.
651	45	July 28	Abscess; drainage	Aug. 11	† Aug. 18	About $6^1/_2$ days
611	46	July 17	Small, hard infiltration	„	† Aug. 12	22 hrs.
612	47 [1])	„	† July 21, 1911	.	See Rec. 652	.
652	47	July 28	Abscess; drainage	Aug. 11	† Aug. 12	25 hrs.
613	50	July 17	Abscess size of a cent; drainage	„	† „	About 18 hrs.
614	51	„	Abscess size of a walnut; drainage	„	† „	„
615	52	„	Infiltration size of an egg; partial drainage	„	Alive and well	.
616	54	„	Infiltration; no drainage	„	† Aug. 15	About $3^1/_2$ days
617	Control	.	.	„	† Aug. 12	25 hrs.

The data presented in Tables 2 and 3 appeared to fully confirm the results already reported [2]) and to warrant the following conclusions: (1) that a single subcutaneous inoculation with 3 c. c. (or probably less), of a 48-hour bouillon culture of the avirulent cholera strain, 52, conferred a marked resistance, within a period of at least twenty-five days, to the highly virulent culture, 48, even when the amount of Culture 48 inoculated was the equivalent of about 100 million times the M. L. D. (Table 3); furthermore, that the resistance of these animals was sufficient to protect them subsequently against at least 1 c. c. of the virulent culture. It also appeared that the animals which had been previously inoculated with Cultures 16, 42, 45, 46, 47, 50, 51 and 54, and also the control rabbits (which received no preliminary inoculation), although giving strong local reactions, died with two exceptions, in from 12 to 26 hours; and that the exceptions noted died in $3^1/_2$ and $6^1/_2$ days, respectively.

In order to make the point, however, regarding the protective value of Culture 52, as opposed to all the other cultures, as certain as possible,

---

tures will be referred to when occasion demands, by Arabic numerals, and the homologous cultures, 48 and 52 will be especially considered.

1) These were half-grown rabbits. They were replaced by rabbits 651 and 652.

2) Hadley (1911).

one other test employing only Cultures 52 and 16 was made but a larger number of animals were inoculated.

Experiment 2. Comparison of the protective value of Cultures 16 and 52.

In this case four rabbits were inoculated with Culture 52 and two with Culture 16. Two uninoculated rabbits were also used as controls. Further details of the experiments are presented in Table 4.

Table 4.

Giving additional data on the relative protective values of Culture 16 and 52.

Rec. No.	Preliminary inoculation					Interim	Infection with 1-trillionth c. c. of Culture 48		
	Date	Culture	Amt.	Method.	Result		Date	Result	Period
	1911						1911	1911	
518	May 5	52	3 c. c.	Subcutan.	Abscess; drainage	42 days	June 16	Alive[1]	.
519	„	52	„	„	id.	„	„	Alive[1][2]	.
520	„	52	„	„	„	56 days	June 30	Alive[1][3]	.
521	„	52	„	„	„	„	„	Alive[1]	.
522	May 9	16	„	„	„	38 days	June 16	† June 17	17 hrs.
523	„	16	„	„	„	52 days	June 30	† July 1	18 hrs.
524	Control	.	.	.	.	.	June 16	† June 17	16 hrs.
525	„	.	.	.	.	.	June 30	† July 1	24 hrs.

The result of the second test, outlined in Table 4, left no further doubt regarding the protective value, in rabbits, of single inoculations with Culture 52. It is to be observed, however, in the cases reported in Tables 1, 2, 3, and 4, that the inoculations of both cultures 52 and 48 were made under the skin of the abdomen. The inoculations with Culture 48 were made at one side of, and about 4 to 5 cm. from the margin of the infiltration caused by the previous inoculation with Culture 52. The question therefore naturally arose whether there was not here present a "zonal" or local immunity, as opposed to a general immunity. The following tests were made in order to answer this question.

Experiment 3. The question of "local immunity".

If the resistance of protected rabbits to + lethal amounts of Culture 48 were due to a local or "zonal" immunity, one would anticipate fatal issues if the inoculations with Culture 48 were made into other parts of the body than the abdomen. Although such a circumstance seemed improbable, the following experiment was conducted: Six rabbits were inoculated subcutaneously with Culture 52. Subsequently these rabbits were inoculated intraperitoneally, intravenously, or on the flank, back, or ear, with + lethal doses of Culture 48. The details oft his test are presented in Table 5.

A study of Table 5 reveals the fact that although the rabbit receiving the intraperitoneal inoculation with Culture 48 succumbed to the infection, the rabbits which were inoculated intravenously, or on the back, flank, or ear, withstood the infection. This result clearly

1) In these cases the inoculation was followed by no local reaction.
2) Inoculated Aug. 2, 1912 with 0.01 c. c. of Culture 48; immune.
3) Inoculated Aug. 7, 1912 with 0.1 c. c. of Culture 48; immune.

Table 5.
Showing the effect of infective inoculations, other than abdominal, in protected rabbits.

Rec. No.	Preliminary inoculation with 2 c. c. of Culture 52			Interim	Infection with Culture 48				
	Date	Method	Result		Date	Amount	Method	Result	Period
564	1911 June 30	Subcutan.	Abscess; drainage	17 days	1911 July 17	1 1-trill. c. c.	Intra-peritoneal	1911 † Aug. 9	23 day
565[1])	„	„	id.	„	„	„	Intraven.	Alive[3])	.
536	June 9	„	„	7 days	June 16	„	Subcutan., flank.	Alive	.
684	July 17	„	„	21 days	Aug. 7	„	Subcutan., back.	„	.
585	„	„	„	„	„	„	Subcutan., ear.	„	.
524	Control on 536	.	.	.	June 16	„	Subcutan., abdomen	† June 17	16 hour
675	Control on 584, 585	.	.	.	„	„	id.	† Aug. 8	24 hour
540A	Control on 564	.	.	.	July 17	1 1-bill. c. c.	„	† July 18	15 hour
586	July 17	Subcutan., abdomen	Abscess	24 days	Aug. 10	1 1-trill. c. c.	Intra-peritoneal	Alive[3])	.
587[2])	„	id.	„	„	„	„	id.	† Aug. 11	19 hour
679	Control	.	.	.	„	„	Subcutan.	„	16 hour
504	April 6	Intraven.	.	4 months	Aug. 5	„	Intraperit.	Alive[3])	.
615	July 17	Subcutan., abdomen	Abscess	67 days	Sept. 22	„	„	Alive[4])	.
685	Control	.	.	.	„	„	Subcutan.	† Sept. 25	3 days

indicates that the type of resistance with which we are dealing is not due to local reaction of the tissues. But on this assumption one would anticipate that a resistance to intraperitoneal infection would also be present, whereas it is evident from the data presented in Table 5 that rabbit 564, which received an intraperitoneal inoculation with Culture 48, died after a period of twenty-three days. Upon postmortem examination, however, no lesions were found, although the intestines contained many nematode worms and there were cysts in the liver. Cultures taken from the blood and peritoneal fluid remained sterile. In all probability, therefore, its death was not due to the inoculation.

Experiment 4: Protection through intraperitoneal inoculations.

Now that it has been demonstrated that subcutaneous inoculations with Culture 52 produced a resistance against subcutaneous intravenous and intraperitoneal inoculations with Culture 48, it appeared desirable to ascertain whether the opposite would be true — whether sublethal, intraperitoneal inoculations with Culture 52 would yield resistance to subcutaneous infections with Culture 48. The results of tests made to throw light upon this point are presented in Table 6.

1) Tolerated an intraperitoneal inoculation with Culture 48 on Sept. 22, 1911; also an inoculation with 0.01 c. c. on Aug. 8, 1912.
2) A half-grown rabbit.
3) Inoculated with 0.01 c. c. of Culture 48 on Aug. 8, 1912; immune.
4) Had tolerated subcutaneous inoculation with Culture 48 on August 11, 1911.

Table 6.

Showing the effect of inoculation with Culture 48 upon rabbits which had received an intraperitoneal inoculation with Culture 52.

	Intraperitoneal inoculation with Culture 52		Interim	Infection with Culture 48			
Rec. No.	Date	Result		Date	Amount	Result	Period
	1911	1911		1911		1911	
618[1])	Sept. 29	Alive	63 days	Dec. 1	1 1-mill. c. c.	Alive	
619	„	„	„	„	„	„ [2])	
620	„	† Oct. 1					
621	„	Alive	63 days	Dec. 1	1 1-mill. c. c.	Alive	
622	„	„	„	„	„	„	
693	Control			„	„	† Dec. 3	less than 30 hrs.

From the data presented in Table 6, it may be concluded that intraperitoneal inoculations with Culture 52 protect against subcutaneous inoculations with Culture 48. This may be also considered as further proof of the non-local nature of the resistance derived from inoculation with Culture 52.

It now having been demonstrated that (1) inoculations with Culture 52 bring about a genuine protection of rabbits against subsequent subcutaneous inoculations with +lethal doses of Culture 48; and (2) that such protection is not a "zonal", or local immunity, the next point of inquiry was to answer the following question: How small a dose of Culture 52 introduced in one inoculation will produce complete resistance? To answer this question the following experiment was performed.

Experiment 5: The amount of Culture 52 required in order to produce complete resistance.

It had been learned from Experiment 2 that 3 c. c. of Culture 52 furnished protection; and from Experiment 3 that 2 c. c. also produced the same result. Therefore in the present experiment, amounts less than 2 c. c. were employed.

We observe from the data given in Table 7 that the rabbits which received Culture 52 in the amount of 0.00000001 c. c., and in all larger amounts, were fully protected against 100 million times the M. L. D. of Culture 48, an amount which was fatal for the control rabbit in less than 21 hours. It is probable that still smaller amounts would exert a protective action.

It was hoped that the inoculation of so small an amount of Culture 52 as 0.00000001 c. c. would reduce the local reaction to a minimum. The experimental results showed that the infiltration and abscess in rabbits 691 and 692 was smaller than in most cases in which from 0.1 to 2 c. c. of culture was inoculated. Observations of many lesions make it appear, however, that the severity of the reaction, at least

1) This was the second group of rabbits which were given an intraperitoneal inoculation with Culture 52. The first lot was composed of young or half-grown animals, and all succumbed to the inoculation.

2) Inoculated Aug. 2, 1912 with 0.01 c. c. of Culture 48; Immune.

Table 7.

Showing the protective value for rabbits of amounts of Culture 52 between 0.1 c. c. and 0.000000 01 c. c.

	Subcutaneous inoculation with Culture 52			Subcutaneous inoculation with Culture 48			
Rec No.	Date	Amount	Result	Date	Amount	Result	Period
	1911			1911		1911	
680	Aug. 17	0.05 c. c.	8/26 Infiltration size of a dollar; abscess; drainage	Sept. 22	1 1-trill. c. c.	Alive [3])	
681	Aug. 17	0.01 c. c.	8/24 Infiltration size of a dollar; abscess; drainage	Sept. 22	1 1-trill. c. c.	Alive [3])	
682	Aug. 17	0.001 c. c.	8/24 Infiltration size of a quarter-dollar; abscess; drainage	Sept. 22	1 1-trill. c. c.	Alive	
683	Aug. 17	0.0001 c. c.	8/24 Infiltration size of a half-dollar; abscess; drainage	Sept. 22	1 1-trill. c. c.	Alive [3])	
684	Aug. 17	0.000 01 c. c.	8/24 Infiltration size of a dollar; abscess; drainage	Sept. 22	1 1-trill. c. c.	Alive	
686	Aug. 25	0.000 001 c. c.	8/31 No reaction	Oct. 6	1 1-mill. c. c.	† Oct. 9	$2^1/_2$ days
687	Aug. 25	0.000 000 1 c. c.	8/31 No reaction	not infected		†Sept. 19 [4])	
685	Control			Sept. 22	1 1-trill. c. c.	† Sept. 26	$3^1/_2$ days
694	Oct. 6	0.000 01 c. c.	10/10 Small infiltrat.; no abscess formed	Dec. 23	0.1 c. c.	† Dec. 24 [2])	18 hours
690	Oct. 6	0.000 001 c. c.	10/10 Abscess; size of a half-dollar; drainage	not infected [1])		† Nov. 6 [1])	
691	Oct. 6	0.000 000 1 c. c.	10/10 Infiltration 2 inches long and size of a pencil	Dec. 1	0.000 001 c. c.	Alive	
692	Oct. 6	0.000 000 01 c. c.	10/10 Infiltration size of a cent; drainage	Dec. 1	0.000 001 c. c.	Alive	
693	Control	.	.	Dec 1	0.000 001 c. c.	† Dec. 1	Less than 39 hours

within certain limits, is more a question of the individuality of the animal inoculated, than of the amount of the culture used. Only slight differences in the extent of the lesion can be detected in different cases where the amounts inoculated are less than 0.1 c. c.

Experiment 6. The M.L.D. of virulent Culture 48 for protected rabbits.

Having thus ascertained from Experiment 5 that a single inoculation with 0.000 000 01 c. c. of Culture 52 protects rabbits against one-millionth of a cubic centimeter of a 48-hour bouillon culture of Strain 48 (which amount may be roughly estimated as 1000 billion times the minium lethal dose for unprotected rabbits), an attempt was made to ascertain just how large a dose of Culture 48 a certain amount of Culture 52 would "neutralize" upon the first inoculation of the former culture. It

1) Injured by fighting with another rabbit and killed.

2) This rabbit had young on Nov. 20, and therefore was not inoculated on Dec. 1, with the others in the same lot. See Inoc. Rec. 694, Table 13.

3) Inoculated Aug. 2, 1912 with 0.01 c. c. of Culture 48; immune.

4) Cause of death unknown.

seemed possible that several inoculations of protected rabbits with Culture 48, might, if the rabbits survived, increase the degree of resistance already present.

Accordingly, rabbits which had received subcutaneously 2 c. c. of Culture 52 were inoculated, after a period of thirty-eight or thirty-nine days, with amounts of Culture 48 varying between 0.000 000 000 001 c. c. and 2 c. c. Control rabbits were inoculated with 0.000 000 001 c. c. of the virulent culture. Further data on this experiment are presented in Table 8.

Table 8.

Showing the effect of inoculating protected rabbits with amounts of Culture 48 lying between 1-trillionth c. c. and 2 c. c.

Rec. No.	Subcutaenous inoculation with 2 c. c. of Culture 52		Interim	Subcutaneous inoculation with Culture 48			
	Date	Result		Date	Amount	Result	Period
	1911			1911			
536	June 9	Abscess size of a dollar; drainage	7 days	June 16	1 1-trill. c. c.	Alive; abscess size of bean; drainage	.
537	„	Infiltration; no drainage	38 days	July 17	1 1-bill. c. c.	Alive; abscess size of walnut; drainage	.
538	„	Infiltration; no drainage	„	„	1 1-mill. c. c.	id.	.
539	„	Abscess; drainage	„	„	0.001 c. c.	„ [1])	.
540	„	id.	„	„	0.01 „	„	.
626	July 17	„	39 days	Aug. 25	0.1 „	„ [2])	.
627	„	„	„	„	1.0 „	„ [2])	.
628	„	„	„	„	2.0 „	Alive; abscess size of a dollar; drainage [2])	.
540a	Control	.	.	July 17	1 1-bill. c. c.	† July 18, 1911	12 hrs.
685	„	.	.	Aug. 25	„	† Aug. 26, 1911	21 „

Table 8 shows that the inoculation with Culture 52 produced in every case, except one, an infiltration which became necrotic and terminated in drainage. The inoculations with Culture 48 produced in most of the animals similar but smaller abscesses some of which also underwent drainage at a later date. The main point indicated by the table, however, is that the protected animals tolerated two cubic centimeters of virulent culture, while one one-billionth of a cubic centimeter caused the death of the control animals in twelve and twenty-one hours, respectively. The amounts of infective material might have been increased in subsequent experiments, but when it was considered that protection had been successfully produced to such a tremendous amount of virulent culture, it appeared that the knowledge that protected rabbits were immune to five or even ten cubic centimeters of the same culture, would possess but slight additional value. We may, therefore, conclude that rabbits protected by 2 c. c. of Culture 52 are resistant to at least 2 c. c. of virulent culture, and probably to much larger amounts. The fact is thus clear that the resistance is sufficient to enable animals to escape almost any degree of natural infection.

1) Inoculated Aug. 7 1912 with 0.01 c. c. of Culture 48; immune.
2) Inoculated Aug. 2 1912 with 0.01 c. c. of Culture 48; immune.

Experiment 7: Time of appearance of first resistance.

The next point to be studied was the time when resistance first appears in animals protected by a single inoculation with Culture 52. To answer this question, six rabbits were inoculated subcutaneously on August 4, with 1 c. c. of Culture 52. At intervals of 24 hours thereafter, these rabbits were given various amounts of a 48-hour bouillon culture of Strain 48 ranging from 10 million to 100 quadrillion times the M. L. D. There seemed to be no need of sacrificing a control rabbit for each of these tests, which were made on successive days up to a period of one week; therefore only four control animals were employed. Further data on this experiment are given in Table 9.

Table 9.

Showing the time within which resistance first appears in protected rabbits.

Rec. No.	Inoculation with Culture 52			Interim	Inoculation with Culture 48				Remarks
	Date	Amt.	Result		Date	Amount	Result	Period	Fatal termination
	1911				1911		1911		
630	Aug. 4	1 c.c.	Abscess drainage	24 hrs.	Aug. 5	1 1-trill. c.c.	† Aug. 7	Less than 36 hrs.	.
631	„	„	id.	48 hrs.	Aug. 6	1 1-bill. c.c.	† Aug. 11	Over 5 days	Delayed
614	Control	.	.	.	„	„	† Aug. 7	Less than 21 hrs.	.
632	Aug. 4	1 c.c.	id.	3 days	Aug. 7	1 1-mill. c.c.	† Aug. 9	About 36 hrs.	.
675	Control	.	.	.	„	1 1-trill. c.c.	† Aug. 8	24 hrs.	.
633	Aug. 4	1 c.c.	id.	4 days	Aug. 8	0.001 c.c.	† Aug. 11	Over 3 days	Delayed
634	„	„	„	5 „	Aug. 9	„	† Aug. 13	4 days	„
676	Control	.	.	.	„	1 1-trill. c.c.	† Aug. 10	19 hrs.	.
635	Aug. 4	1 c.c.	id.	6 days	Aug. 10	0.001 c.c.	† Aug. 12	43 hrs.	Delayed
619	Control	.	.	.	„	1 1-trill. c.c.	† Aug. 11	17 hrs.	.
536	June 9	2 c.c.	id.	7 days	June 16	„	Lives[1])	.	Prevented
524	Control	.	.	.	„	„	† June 17	16 hrs.	.
653	July 28	3 c.c.	id.	7 days	Aug. 4	1 1-bill. c.c.	Lives[1])	.	Prevented

In Table 9, it is shown that all the treated rabbits that were infected within a period of six days after the preliminary inoculation with Culture 42 eventually succumbed to the test, while those that were infected on or after the seventh day, withstood the infection. In connection with these results, two points should be especially observed: First, that the smallest amount of the infecting organism inoculated was ten million times the M. L. D. (630, 536), while all the other rabbits received a much larger amount. If the rabbits inoculated on the second, third, fourth, fifth, and sixth days had received only the M. L. D. it is possible that some of them might have proved resistant.

In the second place, it is apparent that, although the rabbits inoculated with Culture 48 on the second, third, fourth, fifth, and sixth day following the inoculation with Culture 52, succumbed to infection, some of them did nevertheless, manifest resistance. The resistance is not very clear in the case of 630, 632 and 635, but the fact that rabbits 631, 633 and 634 lived 5 days, 4 days, and 4 days, respectively, after infection, while the controls, 674 and 676, died in 21 hours and 19 hours,

1) Observations continued for 8 months.

respectively, after infection, surely indicates that even in so short a period as two to four days there is a beginning of the elaboration of those protective forces, which within a period of seven or more days, develop in sufficient amount to furnish complete resistance against extremely large amounts of virulent material.

Experiment 8. The duration of resistance in rabbits.

In the foregoing experiment (7) it has been shown that the resistant forces of protected rabbits begin to manifest themselves about 48 hours after the protective inoculation, and by the sixth or seventh day acquire sufficient strength to fully protect the animals against powerful infections with the fowl cholera virus. The question now arises, as to how long this immunity persists. Is it transient, or is it retained for months, or perhaps years, as complete active immunity? To answer this question, rabbits which were protectively inoculated May 5, 1911, were subsequently inoculated at various times with Culture 48. All of the rabbits so inoculated had received at an earlier date (in most cases from one to two weeks after the inoculation with Culture 52) a primary test-inoculation with the virulent Culture 48. Whether this circumstance may have increased the degree of resistance, or may have rendered the resistance more permanent, it is not possible to state. In these cases, the subsequent inoculations with the virulent culture, 48, may possibly serve to endow the serum of the protected animal with a higher protective value, but it does not seem possible that it could make the inoculated animal any more refractory. One may properly speak of differences in degree of resistance, but differences in degree of immunity are difficult to appreciate, since the term, immunity, should only be used to designate resistance of very high power. The question regarding the protective value of the serum of immunized rabbits, and regarding the influence of subsequent inoculations with Culture 48 upon the efficiency of such serum, remains to be considered in a later publication. The data on the experiment, performed to ascertain the duration of resistance in immunized rabbits, are presented in the accompanying table (10).

Table 10.

Showing the duration of resistance in rabbits immunized by inoculation with Culture 52.

Rec. No.	Subcutaneous inoculation with Culture 52			Interim	Subcutaneous inoculation with Culture 48			
	Date	Amount	Result		Date	Amount	Result	Period
519	May 5 '11	3 c. c.	Abscess; drainage	1 yr. 2 mo. 28 days	Aug. 2 '12	0.01 c. c.	No reaction; alive	
824 B	Control	.	.	.	Aug. 2 '12	0.01 c. c.	† Aug. 3 '12	21 hr.
520	May 5 '11	3 c. c.	Abscess; drainage	8 mo. 26 days	Jan. 31 '12	0.1 c. c.	No reaction; alive	
789	Control	.	.	.	Jan. 31 '12	0.1 c. c.	† Feb. 1 '12	14 hr.
801	May 5 '11	3 c. c.	Abscess; drainage	10 mo. 11 days	March16'12	1 1-mill. c. c.	No reaction; alive	
802	Control	.	.	.	March16'12	1 1-mill. c. c.	†March 17'12	18 hr.
506	Apr. 6 '11	3 c. c.	Abscess; drainage	1 yr. 9 mo. 24 days	Jan. 30 '13	0.1 c. c.	No reaction; alive	
903	Control	.	.	.	Jan. 30 '13	0.1 c. c.	† Jan. 31 '13	18 hr.

The results reported in Table 10, demonstrate that for at least 22 months, protected rabbits were able to resist large doses of Culture 48. In fact, the resistance of these adult rabbits was so great, that after a period of $6\,^1/_2$ months, the condition was imparted to the young rabbits born to one of the protected mothers (519). Two of these young rabbits from a litter of six, inoculated December 23, 1911 (at the age of 30 days) with $^1/_{100}$ c. c. of Culture 48 proved fully resistant to this amount, which represented, roughly, a quintillion times the M. L. D. Another rabbit from the same litter inoculated January 31, 1912, proved to be no longer resistant. It thus appears that the inherited active immunity endures at least for a month, while the primary, active immunity, endures surely for 22 months, and in all probability for years. Further data on these cases of inherited immunity are reported on a later page (See Experiment 11).

Experiment 9. Simultaneous inoculation with Cultures 48 and 52.

The results of the foregoing experiments have further established the fact of the high virulence of Culture 48, and have proved that complete immunity to infection with this culture can be easily effected by means of a single inoculation with 0.000 000 01 c. c. (and probably less) of Culture 52. The question now arises: Will a large dose of Culture 52 protect against a + lethal dose of Culture 48, when the two cultures are injected simultaneously? And, if the animals survive, would the degree of resistance be any higher than in the case of rabbits immunized by means of Culture 52 alone? Data on the experiment to throw light upon the first point are given in Table 11[1]).

Table 11.

Showing the result of inoculating Culture 52 coincidently with Culture 48.

Rec. No.	Date	Amount of Culture 48	Amount of Culture 52	Result
790	Jan. 31, 1912	0.001 c. c.	0.001 c. c.	† Feb. 1, 1912
791	„	„	0.01 c. c.	† „
792	„	„	0.1 c. c.	† „
793	„	„	1.0 c. c.	† Feb. 3, 1912
789	„	„	—	† Feb. 1, 1912

From the results of these tests it is apparent that the simultaneous injection of Culture 52 with Culture 48 did not, in these cases, prevent the advance of infection. Whether the delay in the fatal issue in the case of rabbit 793, which received 1 c. c. of Culture 52, is explainable on the grounds of a protective effect from the inoculation of Culture 52, cannot be stated, although this appears possible.

It must be taken into consideration, however, that in the cases mentioned above, the infecting dose of Culture 48 was very large

1) The technique of making these inoculations was as follows: Dilutions of Culture 48 were made as described on page 277, so that each cubic centimeter of bouillon contained the desired amount of the original culture. Similar dilutions were made of Culture 52. After mixing, 2 c. c. of the combinations were drawn into a syringe and injected subcutaneously. Different dilutions of Culture 48, and other proportions of the two cultures were secured by a similar method.

(0.001 c. c.). It seemed not improbable that the Culture 52 might still prevent infection with an amount of Culture 48 approximating more closely to the M. L. D. Another experiment was performed in which 0.5 c. c. of Culture 52 was inoculated coincidently with 0.5 c. c. of Culture 48, having a dilution of 1 : 1 trillion. The method and results of this test are presented in the following tabulation:

Rabbit 38F; Inoculation Rec. 542.

June 9, 1911, — Animal received $^1/_2$ c. c. of Culture 52 plus $^1/_2$ c. c. of Culture 48, dilution 1 to 1 trillion. Cultures mixed and inoculated subcutaneously under the skin of abdomen. Control 543 inoculated and died in 11 hours.

June 10, Swelling size of a bean; animal is quiet and does not eat.

June 11, Small hard infiltration with redness at surface; animal does not appear ill.

July 26, No abscess has formed; infiltration has disappeared; animal has grown thin.

August 3, No sign of illnes, but animal is much emaciated. Animals which received Culture 52 alone on June 9 remain well and in good flesh.

August 18, Gaining in flesh and apparently in good health.

January 17, 1912. Rabbit in perfect health. Inoculated with $^1/_{10}$ c. c. of Culture 48 and found to be fully immune.

From the data presented above, it is apparent that when the amount of Culture 52 was raised, and the amount of Culture 48 was lowered to about 10000000 times the M. L. D., the simultaneous inoculation with these cultures was not fatal.

Experiment 10. The protective value of killed and attenuated cultures.

It has frequently been the case in immunological studies, involving diverse types of micro-organisms, that resistance has been effected in susceptible animals by inoculation with attenuated cultures, dead cultures (bacterins), tissue reaction-products (exudates), or extracts of cultures („artificial aggressins“). Pasteur (op. cit.), appears to have succeeded with the first type of inoculation in the case of cholera in fowls; Weil (1905), produced in rabbits by means of sterilized pleural exudates, a high degree of resistance to the fowl cholera virus; and Citron and Pütz (1907) produced, through the agency of bacterial extracts, a moderate resistance in rabbits to the same organism. But efforts to produce immunity in rabbits through the inocultion of dead or of attenuated cultures of the fowl cholera bacterium, have not been so successful; and Shoukevitch (1910) was unable to produce, in the same animals and by the same method, resistance to Bacillus suipesticus, a closely related organism. Needless to state, a method of immunization employing dead cultures has many points of advantage over the use of living material.

It therefore appeared desirable to ascertain whether either attenuated or killed cultures of Strains 52 or 48 would confer immunity to the living, virulent Culture 48. In the case of attenuated cultures (if one can so speak of a culture that has been attenuated further than the original Culture 52) the method employed was to heat the bouillon cultures at 44° C for a period of 3—4 hours. The other cultures were killed by exposing them in a water-bath to either 62° or 63° C (the minimum thermic death point) for one-half hour. Further data regarding this experiment are presented in Tables 12 and 12a. It may be said in passing that in nearly all the earlier cases the test of immunity was

inoculation with 0.000 000 000 001 c. c. of Culture 48, this amount being, roughly, 100 million times the M. L. D. for adult rabbits, and invariably fatal; in later cases a much larger amount was employed, even 0.001 to 0.1 c. c.

Table 12.

Showing the protective value of heated Cultures 48 and 52 [1]).

Rec. No.	Data on inoculation with Culture 52 and 48				Remarks
	Date	Culture	Amount	Result.	
641	July 28, 1911	48	1 c. c.	† Less than 15 hrs.	—
725	Feb. 27, 1912	48	0.1 c. c.	† Less than 37 hrs.	—
726	Feb. 27, 1912	48	0.01 c. c.	† in 20 hrs.	—
645	July 28, 1911	52	3 c. c.	Abscess, drainage	Infected Aug. 25, 1911 [2]) with 1 1-trillionth c. c. Culture 48; lives

It thus appears from the experiments reported in Tables 12a, b and c that heating at 44° C for three hours, did not attenuate Culture 48, while heating at 63° C, and thereby killing the culture, left it with no ability to bring about resistance upon inoculation, although the inflammation following the inoculation indicated the presence of a remnant of irritating power in the killed culture. In these cases, however, it is to be observed that only one of the rabbits received more than two inoculations with the killed culture. It seemed possible that a larger number of inoculations with the killed culture might produce a greater effect. For this reason another experiment was performed, in which the rabbits were inoculated on three successive occasions with the killed Culture 48. The results of this test are presented in Table 12b.

A glance at this table shows that, on the whole, the results were more favorable than in the case of the earlier experiment summarized in Table 12a. Of six rabbits which lived until the end of the experiment, three, or 50%, appear to have been thoroughly protected as a result of the thrice-repeated inoculations with killed Culture 48. These rabbits were still resistant when tested on February 6, 1913. It appears probable that if larger doses of killed culture were employed, and the number of inoculations was increased, the method would prove to be even more than 50% efficient. Experiments devised to test this point are now in progress.

With respect to the inoculation of rabbits with heated cultures of Strain 52, it is shown in Table 12 that heating at 44° C for three hours did not destroy the ability of the culture to exert its protective action upon inoculation. In Table 12a it is demonstrated that a single inoculation with 2 c. c., and in one case (731) a repeated inoculation with 1 c. c. of Culture 52, killed by heating, failed to produce resistance; while in another case (732) the thrice-repeated inoculation with 1 c. c. of the killed culture resulted in immunity. Table 12c shows the result of three other successful attempts to produce resistance by the inoculation with killed cultures of Strain 52. It appears, furthermore that when the amount of 2 c. c. was twice inoculated, immunity resulted just as

1) For use in this experiment, 48-hour bouillon cultures were heated for 3 hours at 44° C. No carbolic acid was used with these cultures; cf. Huntemüller (1906).

2) Inoculated Aug. 2, 1912 with 0.01 c. c. of Culture 48; immune.

Table 12a. Showing the protective value for rabbits of killed cultures 48 and 52 [1]).

Rec. No.	Data on preliminary inoculation				Interim	Data on inoculation with Culture 48			
	Date	Culture	Amount	Result		Date	Amount	Result	Period
673	Aug. 4, 1911	48	1 c. c.	Slight infiltration; lives	21 days	Aug. 25, 1911	1 1-trill. c. c.	Aug. 26, 1911	22 hrs.
644	Aug. 25, 1911	48	1 c. c.	† in about 30 hrs.	.	.	.	.	.
729	Feb. 27, 1912	48	0.1 c. c. [2])	† March 7, 1912 [4])	.	.	.	.	.
730	Feb. 27, 1912	48	0.01 c. c. [3])	.	18 days	March 16, 1912	1 1-mill. c. c.	Alive [5])	.
672	Aug. 4, 1911	52	2 c. c.	No visible reaction	21 days	Aug. 25, 1911	1 1-trill. c. c.	Aug. 26, 1911	20 hrs.
731	Feb. 27, 1912	52	1 c. c. [2])	No visible reaction	18 days	March 16, 1912	1 1-mill. c. c.	March 17, 1912	Less than 20 hrs.
732	Feb. 27, 1912	52	0.1 c. c. [3])	No visible reaction	18 days	March 16, 1912	1 1-mill. c. c.	Alive [5])	.

Table 12b. Showing the effect of subcutaneous inoculations of rabbits with killed cultures of Strain 48.

Rec. No.	Data on inoculation with killed Culture 48			Interim	Data on infection with living Culture 48			
	1st. inoc; 1 c. c.	2nd. inoc; 1 c. c.	3d. inoc; 1 c. c.		Date	Amount	Result	Period
923	Oct. 17, 1912	Nov. 21, 1912	Dec. 5, 1912	15 d.	Dec. 20, 1912	0.001 c. c.	† Dec. 21, 1912	22 hrs.
924	„	„	„	„	„	„	† Dec. 22, 1912	40 hrs.
925	„	„	„	„	„	„	Alive [7])	.
926	„	„	„	„	„	„	Alive [7])	.
927	„	„	„	„	„	„	† Dec. 21, 1912	22 hrs.
929	„	„	„	„	„	„	Alive [7])	.
928	„	.	.	35 d. [6])	Nov. 21, 1912	„	† Nov. 22, 1912	26 hrs.
930	Control	.	.	.	Dec. 20, 1912	„	† Dec. 21, 1912	14 hrs.
931	„	.	.	.	„	„	† Dec. 21, 1912	16 hrs.

Table 12c. Showing the effect of the subcutaneous inoculation of rabbits with killed cultures of Strain 52.

Rec. No.	Data on subcutaneous inoculation with killed Culture 52										Interim	Data on subcutaneous infection with Culture 48			
	First inoculation		2d. Inoc.		3d. Inoc.		4th. Inoc.		5th. Inoc.			Date	Amt.	Result	Period
	Date	Amt.	Date	Amt.	Date	Amt.	Date	Amt.	Date	Amt.					
821	July 29, 1912	2.0	8/2	2.0	8/8	2.0	8/14	2.0	8/21	2.0	7 days	Aug. 28, 1912	0.01	Alive [8])	.
821a	Aug. 2, 1912	2.0	8/8	2.0	8/14	3.0	8/21	3.0	.	.	7 days	Aug. 28, 1912	0.01	Alive [8])	.
821b	Aug. 14, 1912	2.0	8/21	2.0	.	.	.	.	.	.	7 days	Aug. 28, 1912	0.01	Alive [8])	.
824d	Control	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	Aug. 28, 1912	0.001	Aug. 29, 1912	13 hrs.

1) For this experiment 48-hour bouillon cultures were killed by heating for ½ hr. at 63° C. 2) Inoculation repeated with 1 c. c. of culture on March 5, 1912. 3) Inoculation repeated with 1 c. c. of culture on March 5, 1912, and on March 8, 1912. 4) Cultures from heart positive, indicating that culture was not actually killed. 5) Inoculated Aug. 2, 1912 and Nov. 21, 1912, with 0.01 c. c. of Culture 48; immune. 6) From first protective inoculation. 7) Inoculated Feb. 2, 1913 with 0.01 c. c. of Culture 48; immune. 8) Inoculation with 0.01 c. c. of Culture 48 repeated on Nov. 21, 1912. No deaths resulted.

effectively as in the cases in which the inoculation with 2 c. c. was four (821a) or five (821) times repeated.

From these results with the employment of heated and of killed cultures of Strains 52 and 48 it may therefore be tentatively concluded that: (1) heating at 44° C for three hours neither injures the immunizing power of Culture 52 nor lowers the virulence, for rabbits, of Culture 48; (2) that cultures of not 52 alone, but of 48 as well, when heated at 63° for one-half hour and inoculated several times successively, possess the power to produce, in a certain proportion of rabbits, a high degree of resistance against infection with virulent cultures; (3) that this ability is greater in the case of Culture 52 than in the case of Culture 48.

Experiment 11. Inheritance of resistance to infection with Culture 48.

In concluding these experiments dealing with the production of active immunity in rabbits, the results of an attempt to ascertain whether young rabbits, the progeny of an immune mother, are also immune, will be reported. This experiment might be considered as a test of the degree and duration of the resistance possessed by the mother rabbit. It should be said in passing that no attempt has been made to make this study of the inheritance of resistance complete. The subject affords several interesting problems which will be taken up, as opportunity offers, at a later date. The main results of the present tests are brought together in Table 13.

As shown in Table 13, the M. L. D. of Culture 48 for young rabbits (subcutaneous inoculation) was first ascertained, within rough limits, to be about the same as for adults. Subsequently the young of immunized and non-immunized mothers were infected with an amount of culture equal to many times this dose. The results show that Rabbit 519, six and one-half months after being immunized, gave birth to a litter of six young, two of which, when tested at the age of thirty days were perfectly resistant to 0.01 c. c. of virulent culture.

Another young rabbit (788) from the same litter, tested at the age of 10 weeks, showed no appreciable resistance. In the case of rabbit 694 and one of her young, tested for immunity on Dec. 23, 1911, a different result followed; both the mother and the young rabbit (33 days old) died within 18 hours, demonstrating the absence of any resistance to infection.

Upon inquiry into the possible cause of this fatal issue in a rabbit that had been inoculated with Culture 52, it was found that, although the original inoculation caused a slight infiltration, this never became necrotic and never underwent drainage. It is thus suggested that a certain amount of local reaction is necessary before inoculation with Culture 52 can result in liberating in the body of the animal, those forces which determine resistance to infection. An apparent exception to this is the resistance produced in Rabbit 504 by an intravenous inoculation with Culture 52 (see Experiment 1). This circumstance will be further studied.

The duration of the ability on the part of immune mothers to produce immune young is well indicated by the records of 921, 922 and 889. These young rabbits were the progeny of 16E (653) which had been immunized 1 year, 1 month, and 17 days previously. One of these young still possessed resistance at the age of 40 days.

Table 13. The inheritance of immunity and the duration of the ability of immune females to produce immune young.

Data on the mothers				Interim to birth of young	Data on the infection of the young						
No.	Date of immunizing	Amt.	Result		Rec. No.	Age	Date	Amount	Result	Period	Remarks
16 E	Normal	.	Control on 921, 922, 923	.	Control 663	15 d.	July 28, 1911	1 1-trill. c.c.	† July 29, 1911	18 h.	.
„	„	.	„	.	Control 664	„	„	1 1-quadrill. c.c.	„	21 h.	.
„	„	.	„	.	Control 665	„	„	1 1-quintill. c.c.	„	20 h.	.
„	„	.	„	.	Control 666	„	„	1 1-sextill. c.c.	No reaction	.	No bacteria present in this dilution
„	July 28, 1911	3 c.c.	Severe abscess-formation and drainage	1 yr. 1 mo. 9 d.	921	32 d.	Oct. 9, 1912	0,001 c.c.	Alive	.	See Note [2])
„	„	„	„	„	922	32 d.	„	„	„	.	See Note [3])
„	„	„	„	1 yr. 1 mo.	889	40 d.	Oct. 17, 1912	„	„	.	See Note [4])
16 A	Normal	.	Control on 921, 922, 923	.	Control 914	31 d.	Oct. 9, 1912	„	† Oct. 10, 1912	14 h.	.
„	„	.	„	.	Control 915	31 d.	„	„	† Oct. 10, 1912	17 h.	.
18 H	„	.	„	.	Control 888 a	38 d.	Oct. 17, 1912	„	† Oct. 18, 1912	14 h.	.
519	May 5, 1911	3 c.c.	Abscess and drainage	6 mo. 18 d.	723	30 d.	Dec. 23, 1911	0,01 c.c.	Alive	.	See Notes [1]) and [4])
„	„	„	„	„	724	30 d.	„	„	„	.	„
„	„	„	„	„	788	69 d.	Jan. 31, 1912	„	† Feb. 1, 1912	14 h.	Period of resistance expired
„	„	„	„	„	761	3 m.	Feb. 29, 1912	„	† March 1, 1912	16 h.	„
55 D	Normal	.	Control on 723, 724	.	Control 720	6 m.	Dec. 23, 1911	„	† Dec. 24, 1911	18 h.	.
694	„	.	„	.	Control 721	33 d.	„	„	„	„	.
81 C	„	.	Control on 788	.	Control 789	10 w.	Jan. 31, 1912	„	† Feb. 1, 1912	14 h.	.
83 C	„	.	Control on 761	.	Control 763	3 m.	Feb. 29, 1912	„	† March 1, 1912	16 h.	.

1) Inoculated Aug. 2, 1912, with 0,01 c.c. of culture 48; immune.
2) Inoculated Nov. 21, 1912, with 0,01 c.c. of culture 48; † Nov. 22, 1912.
3) Inoculated Nov. 21, 1912, with 0,01 c.c. of culture 48; † Dec. 10, 1912.
4) Inoculated January 30, 1913, with 0,01 c.c. of culture 48; alive.

In connection with this inheritance of immunity, one other point is of interest. Certain young rabbits (723, 724) which, when under 30 days of age, were tested for resistance and found immune, were tested some months later to ascertain whether the immunity was durable. This was actually found to be the case, and the results fully demonstrate that, under the temporary protection of an inherited acquired immunity, rabbits may receive tremendous amounts of virulent culture; and that these inoculations serve to transform the evanescent inherited resistance into an active immunity of high efficiency, which undoubtedly endures through the life of the animal. The suggestion is here present that high resistance in live-stock might be built up and maintained by resort to a procedure involving: (1) the artificial active immunization of the breeding females, and (2) the transformation of any inherited resistance in the young into active immunity, by means of infection, at the proper time, with virulent material[1]).

Experiment 12. Resistance in guinea-pigs.

Unlike the rabbit, the guinea-pig has been found to be somewhat resistant to subcutaneous infection with the fowl cholera organism. As shown in an earlier paper[1]), although the majority of the strains of the fowl cholera bacterium studied to the present time have proved fatal for guinea-pigs only upon intraperitoneal inoculation, the subcutaneous inoculation with 1 c. c. of Culture 48, caused death in 12 to 24 hours; and 0.000001 c. c. was fatal after a slightly longer period; intraperitoneal inoculations were as a rule, fatal in 12 to 16 hours. The attempt was therefore made to raise the slight resistance naturally possessed by guinea-pigs, by the employment of the same method successful in the case of rabbits. The data regarding this experiment are presented in Table 14.

Table 14.

Showing the protective value of Culture 52 for guinea-pigs.

Rec. No.	Inoculation with Culture 52			Interim	Inoculation with Culture 48		
	Date	Amount	Result		Date	Amount	Result
	1911				1911		1911
696[2])	Oct. 6	1 c. c.	Abscess size of egg; drainage	56 days	Dec. 1	1 1-mill. c. c.	Lives
697[3])	„	0.001 c. c.	Abscess size of a dollar; drainage	„	„	„	„
698	Control	.	.	.	„	„	† Dec. 3

From the data presented in Table 14, it may be concluded that, as has been shown to hold true for rabbits, the resistance of guinea-pigs to the virulent culture, may also be greatly raised by a single subcutaneous inoculation with Culture 52.

1) The only investigator that has studied the transmission of immunity against fowl cholera is Di Matteis (1885—1888). This author immunized pregnant rabbits and guinea-pigs by means of inoculating with attenuated cultures of the fowl cholera organism, but in no case were the young born to these mothers immune.

It does not appear, however, that Di Matteis made sure that even the mothers themselves, were rendered immune by the method of treatment which he employed. This circumstance renders his conclusions of slight value.

Experiment 13. Resistance in rats.

Common rats and mice, especially white mice, have been found susceptible to infection with the organism of fowl cholera. The degree of susceptibility of rats appears to lie about midway between that of rabbits and of guinea-pigs. In the present investigation one attempt was made to ascertain whether rats, as was the case with rabbits, could be made immune to infection with the fowl cholera virus. Full-grown, male white rats were chosen for the experiment, the details of which are presented in Table 15.

Table 15.

Giving data on the protection and infection of white rats.

	Inoculation with Culture 52			Interim	Infection with Culture 48			
Rec. No.	Date	Amount	Result		Date	Amount	Method	Result
	1911							1912
699	Oct. 6	0.1 c. c.	Infiltration slight; animal sick	56 days	Dec. 1, 1911	1 1-mill c. c.	Subcutan.	
700	„	0.01 c. c.	id.	„	Dec. 1, 1911	„	„	
701	Control	.	.	.	Dec. 1, 1911	„	„	
699[4])	See above	.	.	15 weeks	Jan.17,1912[4])	„	Intraper.	
700[4])	„	.	.	„	„ [4])	„	„	
701[4])	„	.	.	„	„ [4])	„	„	
764	Control	.	.	.	„	0.1 c. c.	„	
765	„	.	.	.	„	0.1 c. c.	Subcutan.	
766	Control rabbit	.	.	.	„	0.1 c. c.	„	† Jan. 18
767	Control guinea-pig	.	.	.	„	0.1 c. c.	Intraper.	† Jan. 18

From Table 15, it is evident that infection of the three rats (699, 700, 701) with 1 1-millionth c. c. of virulent culture did not succeed, either with the previously inoculated rats or with the control. Suspecting that this resistance might be due to the method of inoculation (subcutaneous), these rats were inoculated again January 9, by the intraperitoneal method. The results of this second test demonstrated that the rats still evinced a complete resistance. On January 17, the protected rats (699, 700) and the first control rat (701) were again inoculated with 0.1 c. c. of virulent culture, and both survived. At the same time two other control rats received 0.1 c. c. of virulent culture and also proved to be resistant, whereas a control guinea-pig which was inoculated intraperitoneally with 0.1 c. c. of culture died in about 16 hours, and a control rabbit, which received 0.1 c. c. subcutaneously, died in about 14 hours. This experiment demonstrated conclusively that, whereas the common rat is fairly susceptible to virulent cultures of the fowl cholera organism, the white rats employed possessed a high degree of natural immunity against the fowl cholera virus as represented by Strain 48.

1) Hadley and Amison (1911); Hadley (1911).
2) Weight 645 grams.
3) Weight 785 grams.
4) These animals were re-inoculated with Culture 48 on this date.

Experiment 14. Resistance in pigeons.

The earlier experiment had shown that the M. L. D. of Culture 48 for pigeons was the same as for rabbits, it being indicated, that in either case, a single bacterium might determine a fatal infection. Data bearing on the attempt to prevent fatal infection in the pigeon are presented in Table 16.

Table 16.

Showing the protective value of Culture 52 for pigeons.

	Subcutan. inoculation with Cult. 52			Inter.	Subcutan. infection with Culture 48			
Rec. No.	Date	Amount	Result		Date	Amount	Result	Period
	1911				1911		1911	
669	July 28	1 c. c.	Slight inflammation	7 days	Aug. 4	1 1-bill. c. c.	† Aug. 6	About 2 days
670[1])	,,	2 c. c.	id.	10 wks	Oct. 6	1 1-mill. c. c.	Lives[1])	
671	,,	2 c. c.	,,	,,	,,	,,	† Oct. 9	About 3 days
686	Control (rabbit)	.	.	.	,,	,,	† Oct. 9	About 3 days

Table 16 makes it clear that, while the two pigeons that received only one preliminary inoculation with Culture 52, died in two days and three days, the pigeon that received two protective inoculations was resistant to 1 1-millionth c. c. of Culture 48. It should be added that another unprotected pigeon, inoculated with Culture 48 a few days previously, died in 14 hours. It thus appears that even the pigeons which had received one protective dose, but which died in two or three days, respectively, after infection, had been endowed with some degree of resistance. This experiment as a whole indicates that, as rabbits are protected by inoculations with Culture 52 against the more virulent culture, so are pigeons protected, but to a lesser degree.

Experiment 15. Active resistance in fowls.

Fowls appear to be naturally somewhat more resistant than rabbits to infections with the fowl cholera bacterium. In the first test made to ascertain what protective value Culture 52 possessed for these birds, six adult fowls were inoculated on June 16, 1911, in the breast muscle, with 2 c. c. of a 48-hour bouillon culture. After intervals of about two weeks, four weeks, and six weeks, two birds from this lot, together with one control, were inoculated subcutaneously with one-trillionth c. c. of a 48-hour bouillon culture of 48. The results of these inoculations are presented in the first half of Table 17.

From the data presented in Table 17 it is apparent that the protective value of intramuscular inoculations with Culture 52 was not great. Of the six birds that had been protectively inoculated, only three, or 50% were resistant to subsequent infection. One point is, however, noteworthy: As shown in Table 17, fowls 550 and 551 received a second inoculation with Culture 52 on June 30, 1911 — two weeks

1) This bird was re-inoculated with 2 c. c. of Culture 52 on Aug. 4, 1911.

Table 17.

Showing the protective value for fowls of intramuscular and subcutaneous inoculations with Culture 52.

Rec. No.	Inoculation with 2 c.c. of Culture 52			Interim	Inoculation with 1-trillionth c.c. of Culture 48			
	Date	Method	Result		Date [3]	Method	Result	Period
	1911				1911		1911	
546	June 16	Intramusc. [1]	No reaction	14 days	June 30	Intramusc.	† July 2	About 38 hrs.
547	„	Intramusc. [1]	Slight inflammation	„	„	Subcutan.	Lives [3]	.
527B	Control	.	.	.	„	Intramusc.	† July 2	About 38 hrs.
548	June 16	Intramusc.	Slight inflammation	31 days	July 17	Subcutan.	† July 23	6 days
549	„	„	id.	„	„	„	† July 18	About 36 hrs.
527C	Control	.	.	.	„	„	† July 29	12 days
550	June 16	Intramusc. [2]	Slight inflammation	42 days	July 28	„	Lives [3]	.
551	„	Intramusc. [2]	id.	„	„	„	Lives [3][4]	.
527G	Control	.	.	.	„	„	† July 29	About 30 hrs.
	1911				1911		1911	
572	July 13	Subcutan.	Slight inflammation	15 days	July 28	Subcutan.	Lives [3][4]	.
573	„	„	id.	„	„	„	Lives [3][4]	.
574	„	„	„	„	„	„	Lives [3][4]	.
527G	Control	.	.	.	„	„	† July 29	30 hrs.
575	July 13	Subcutan.	Slight inflammation	29 days	Aug. 11	„	Lives [3][4]	.
576	„	„	id.	„	„	„	Lives [3][4]	.
577	„	„	„	„	„	„	Lives [3]	.
527D	Control	.	.	.	„	„	† Aug. 13	32 hrs.

after the first inoculation, and four weeks before infection; and these fowls survived.

In the next series of tests the subcutaneous method was employed for the protective inoculations, the culture being injected beneath the skin of the breast. The data relating to these cases are presented in the lower half of Table 17.

The results were unexpectedly successful [5]. From the data presented, it is apparent that the fowls which received a subcutaneous inoculation with Culture 52 survived infection with Culture 48, while the control birds died in 32 hours or less. The same result was upheld in one other test [5] in which only one from six protectively-inoculated birds died, while the control died in 32 hours. The study of active immunity in fowls is being continued.

1) In the breast.

2) Re-inoculated on June 30 with 2 c.c. of Culture 52; immune.

3) The remaining birds were inoculated Oct. 6, 1911 with 0.000 001 c.c. of Culture 48; no deaths resulted.

4) Inoculated Aug. 8, 1912 with 0.1 c.c. of Culture 48; immune.

5) In several tests made more recently, however, the same degree of success has not been obtained from the subcutaneous method of inoculation with Culture 52. Some birds have always survived; but, in some cases, the majority have died from the infecting dose. These results will be presented in detail at a later date.

Experiment 16. Protection afforded by inoculation with Culture 52 against other virulent strains than Culture 48.

The results of the foregoing fifteen experiments, involving the infection of protected rabbits, guinea-pigs, fowls and pigeons against the virulent Culture 48 of the cholera organism, conclusively demonstrate that perfect immunity has been produced most effectively in rabbits and less effectively in fowls. Indeed, it may be said that in no other specific infectious disease of animals does there exist an immunizing process which gives more successful results than are regularly obtained in the case of rabbits by the use of the method here described.

It will be at once apparent, however, that the protective value of Culture 52 has been tested against only one highly virulent strain, namely, Culture 48. We must assume that there exist in nature many different strains that possess high virulence. Needless to state, a method of vaccination which was effective against only one virulent strain would have a very limited field of use. In view of these facts, it is a matter of considerable importance to ascertain whether Culture 52 will protect against other virulent strains of Bact. bipolaris septicus, coming from different sources. Owing to the difficulty in obtaining such virulent cultures, only three tests of this sort have been made at the present date. The results of these tests made with three virulent cultures obtained from Král's laboratory, are presented in Table 18.

Table 18.

Showing the protective value of Culture 52 against other virulent cultures than Culture 48.

Rec. No.	Inoculation with Culture 52			Interim	Infection with virulent cultures				
	Date	Amount	Result		Cult. No.	Date	Amount	Result	Period
	1912					1912		1912	
799	Jan. 22	1 c. c.[1])	Abscess; drainage	22 days	60[3])	Feb. 13	0.1 c. c.	Lives	.
777	Control	.	id.	.	60	Jan. 26	„	† Jan. 27	About 15 hrs
800	„	.	.	.	60	Feb. 13	„	† Feb. 14	About 14 hrs
	1911								
752	Sept. 29	0.1 c. c.	Abscess; drainage	15 weeks	61[3])	Jan. 11	0.1 c. c.[4])	Lives	.
753	„	„	id.	„	61	„	0.1 c. c.[4])	„	.
756	Control	.	.	.	61	„	0.1 c. c.	† Jan. 13	About 30 hrs
754	Sept. 29	0.1 c. c.	Abscess; drainage	6 mos.	62[3])	„	0.1 c. c.[4])	Lives	.
755	July 28	2 c. c.[2])	id.	„	62	„	0.1 c. c.[5])	„	.
757	Control	.	.	.	62	„	0.1 c. c.	† Jan. 12	About 16 hrs

The data presented in Table 18 demonstrate that rabbits immunized with Culture 52 were resistant to amounts of virulent cultures 60, 61 and 62, which were fatal for the

1) Suspension in bouillon of a 48-hour agar culture.
2) Heated for 3 hours at 44° C.
3) The M. L. D. of these virulent cultures, for rabbits, has not yet been ascertained.
4) Rabbit had been inoculated on Dec. 1, 1911, with 1 1-millionth c. c. of Culture 48.
5) Rabbit had been inoculated on Aug. 18, 1911, with 1 1-trillionth c. c. of Culture 48.

control animals in from 15 to 30 hours. The importance of these results is considered in detail on a later page.

Experiment 17. The protective value of serum from actively immunized rabbits.

Valuable as is the knowledge gained from the foregoing sixteen experiments, regarding the protection of animals and birds by means of inoculation with living vaccine in the form of Culture 52, the significance of these results is merged in the answer to a still more important question: What is the prophylactic or therapeutic value of the blood-serum from actively-immunized animals? The use of living cultures as vaccines is well enough for the laboratory, but at the present stage of investigation, reliable as the method appears to be, it cannot justifiably be recommended in general practice; we know too little regarding the power possessed by these attenuated organisms, under suitable conditions to acquire fresh virulence. Until the facts regarding these points are more fully settled, it is probably unwise to deal out to the poultryman, one cholera culture with which to war against another. Our present hope lies in the production of an immunizing serum which is both safe and efficient. To secure this end, the proof that the blood serum of actively-immunized rabbits carries the essential protective factors is the primary requisite. The present experiment was designed, in a preliminary way, to answer this question.

Rabbit 504 (26E), a year-old, cross-bred Belgian hare was used as the source of serum. The history of this animal was as follows:

Jan. 22, 1911. Born.
April 6, received, intravenously, 15 minims of Culture 52; no reaction.
May 2, received, subcutaneously, 1 10-quadrillionth c.c. of Culture 48; immune.
June 2, received, subcutaneously, 1 10-quadrillionth c.c. of Culture 48; immune.
June 30, received, subcutaneously, 1 100-billionth c.c. of Culture 48; immune.
July 17, received, subcutaneously, 1 1-millionth c.c. of Culture 48; immune.
August 5, received 0.1 c.c. of Culture 48, subcutaneously; immune.
August 25, received, subcutaneously, 1 c.c. of Culture 48; immune[1]).
January 22, 1912, from the right ear-vein 12 c.c. of blood were drawn and after separating the serum, two normal three-fourths grown rabbits were inoculated subcutaneously in the abdomen, with $^1/_2$ c.c. and 1 c.c. of the serum, respectively.

Table 19.

Showing the effect of inoculating rabbits, previous to infection, with serum obtained from an actively immunized rabbit.

Rec. No.	Inoculation with serum[2])			Interim	Infection with Culture 48		
	Time	Amount	Result		Time	Amount	Result
769	Jan. 22, 1912	0.5 c.c.	No reaction	3 days	Jan. 25, 1912	0.1 c.c.	Infiltration; † after 4 days
770	„	1 c.c.	„	„	„	„	Infiltration; † after 5 days
771	Control	.	.	.	„	„	† within 14 hrs.

1) On each of the above dates, a control rabbit was inoculated with an amount of Culture 48, varying between 1 1-billionth c.c. and 1 100-quintillionth c.c. The results were fatal, without an exception, in from 15 to 25 hours. This demonstrates the potency of the virus used in the tests for immunity.

2) This serum was obtained from Rabbit 504, which was immunized on April 6, 1911, more than 9 months previous to the inoculation of the serum; see foot-note on p. 279.

Further details of the experiment are presented in the following table (Table 19).

The result of Experiment 17, presented in Table 19 demonstrates that the serum-inoculations actually conferred appreciable resistance upon the inoculated rabbits. While the control rabbit (771) died within a period of 14 hours after the infection, the animal which had received 0.5 c.c. of serum lived for four days, and the one which had received 1 c.c. of serum lived for five days, after infection. This may certainly be regarded as a favorable issue, to the experiment, so far as the possibility of producing a passive immunity in rabbits is concerned. This appears especially true when one takes cognizance of the following facts already stated regarding the history of the rabbit (504) from which the protective serum was derived. It has been shown that this rabbit received its first and only protective inoculation on April 6, 1911. The serum was drawn on January 22, $9^1/_2$ months afterward[1]). It is logical to assume that there is a certain time in the history of every actively-immunized animal when the protective function of the serum attains a degree of maximum efficiency; after which, although still ample for the protection of the individual, its protective power for other animals slowly diminishes. It would seem probable that this period of maximum efficiency is attained within the first few weeks following the protective inoculation. If this hypothesis is correct, one would scarcely expect that, after a period of more than nine months, the immune serum would, in small amounts, afford much protection when inoculated into other rabbits. This circumstance would only bear out what has already been demonstrated in the case of certain other immune sera. To conclude, there is a strong indication that the serum from actively-immunized rabbits is protective when it is inoculated into other individuals. With this point indicated, the present phase of the investigation rests. Further work will involve primarily a more detailed study of the efficiency and properties of this immune serum.

III. Conclusions.

In the foregoing pages, it has been intended to report, as briefly as possible, the experimental data of these investigations without detailed discussion of the results obtained. Before leaving the subject, however, there remain to be considered more fully some of the theoretical aspects of the present study.

One cannot review the literature dealing with that group of diseases placed by Hueppe under the head of haemorrhagic septicaemias without being impressed with the many attempts that have been made to produce either active or passive immunity in these diseases, and with the almost total failure which has attended the results. This is especially true with reference to the contagious pneumonia of swine (Schweine-

1) The question will probably arise in the mind of the reader as to the reason why the serum of rabbit 504 was used in this experiment, since $9^1/_2$ months had elapsed since the protective inoculation. This instance was the first preliminary test of the protective value of the serum, and was made somewhat in advance because of a severe eye-affection which appeared in this rabbit, a circumstance which demanded disposing of the animal. It seemed best to take advantage of this opportunity of testing the efficiency of the serum. Other tests of "fresher" serum are being made and already promise a greater potency, as would be naturally expected.

seuche), contagious pneumo-enteritis of swine (Schweinepest), the contagious, haemorrhagic septicaemia of cattle (Wildseuche), rabbit septicaemia and fowl cholera. In all of these diseases, investigators have attempted to produce immunity through resort to many methods; these have included chiefly the use of cultures attenuated in various ways, small numbers of living organisms, extracts of cultures, and, in more recent years, sterilized exudates. It is only by the last-mentioned methods that any success has been attained; a high grade of active immunity has not heretofore been secured through the use of living, killed, or attenuated cultures [1]).

With special reference to cholera in fowls, a subject which has probably received more attention from investigators than any other disease belonging to the haemorrhagic septicaemia group, the many failures attending attempts to produce immunity are especially apparent. From the time of Pasteur's fundamental experiments on fowl cholera, all efforts to produce immunity by the use of attenuated cultures have failed; at the most, only a slight resistance has been secured. It is sufficient to recall the many instances [2]) in which Pasteur's experiments with attenuated cultures have been repeated without the anticipated successful results. This aspect of the matter has, within the past few years, received great emphasis on the part of many investigators and Voges (1896) states that absolutely no actual immunity is produced by this method. He states the case in the following words:

„Wir haben diese Arbeit begonnen mit den Mitteilungen über die Entdeckung des Hühnercholerabacillus von Perroncito und dem Schutzimpfungsverfahren Pasteurs gegen diese Seuche. Pasteurs geniale Beobachtungen und der glänzende Name dieses Autors schienen uns ein günstiges Omen für das Gelingen unseres Unternehmens. Jetzt am Schlusse der Arbeit müssen wir uns wundern, daß Pasteur gerade diejenige Erkrankung für den Aufbau und als Fundament für die ganze Lehre der Immunität ergriff, bei welcher, soweit unsere Erfahrungen in Frage kommen, keine Immunität erzeugt wird."

It is probably safe to say that this statement fairly expresses the now commonly accepted view regarding the practical value of Pasteur's early work on fowl cholera, — a work which, with respect to its fundamental theoretical aspects, served as the foundation for all later studies on immunity. The suggestive value of his experiments has not been denied, but their practical value, and even the veracity of several of his observations with respect to the production of active immunity in fowls, has been severely called into question by many.

The results of the experiments reported in this paper may be said, first of all, to coincide with the results of Pasteur's original experiments with fowl cholera: they demonstrate that, as a result of inoculations with attenuated cultures of the fowl cholera organism (Pasteur's Pasteurella avium), fowl may be protected against doses of the virus much more than sufficient to kill unprotected birds. The only difference in the method or in the results lies in the following fact: Pasteur employed cultures which had been „artificially attenuated" as a result of a few months exposure to atmospheric air. In the present investigations the immunizing culture (52) was subjected, during a period of more than three years to an existence upon

1) See reference to Sizoff's work on page 274.
2) Cagny (1885), Hess (1886), Kitt (1903), Voges (1896), Schöbl (1909), Schoukevitch (1910) and others.

laboratory culture media, a procedure which probably caused a degree of attenuation as great as, or perhaps greater than, that which characterized the attenuated cultures of Pasteur. As has been shown in Table 1, Culture 52 was physiologically highly active, but at the same time only slightly virulent even for young animals.

What circumstance is responsible for the failure on the part of almost every investigator who, since 1885, has attempted to confirm Pasteur's results, it is now impossible to ascertain; and it is especially difficult to understand the negative results obtained when his first and second vaccines were employed, since here, more than in any other instance, success could have been anticipated. It is to be understood from Pasteur's report of his work that the period allowed for attenuation was at most not more than a few months. But certainly in many cases in which the same or different strains have been employed, a corresponding period of attenuation has not given similar results; the cultures have either not become sufficiently attenuated to render their employment safe; or, in becoming sufficiently attenuated to eliminate the danger of infection, they have failed to produce resistance in the inoculated animal. With respect to this last point, nothing can be more clear as a result of the present study than that, in many strains of the fowl cholera organism, the nature of the attenuating process is such that the loss of ability to produce resistance and the loss of the ability to cause fatal issue, go hand in hand. The conclusion is thus necessitated that, in the case of fowl cholera at least, attenuation and the ability to produce resistance have very little in common: while the strain that produces immunity must be attenuated with respect to virulence, it is apparently the exceptional attenuated culture which is also an efficient immunizing culture. The relation between these two characteristics, — namely, degree of attenuation and ability to produce resistance (together with a third point, — that of the production of local reaction), will be considered in greater detail on a later page.

The results of the present work, however, go beyond the limits of Pasteur's observations. His method of immunization by the use of attenuated cultures was not successful when applied to rabbits and small birds. It is perhaps the chief contribution of this paper to demonstrate that the method of the writer has succeeded in the case of rabbits, guinea pigs, and pigeons, as well as (to a lesser degree) with fowls. This is the first time, so far as the writer is aware, that complete immunity in rabbits or other mammals, to highly virulent strains of the fowl cholera organism has been produced in the manner described, — an immunity at least as great as that obtained by Weil (1905) as a result of inoculating rabbits with sterilized pleural exudates; and apparently much more perfect than the resistance secured by Wassermann and Citron (1905), or by Citron and Pütz (1907) through the use of serum-extracts or water-extracts of bacterial cultures, the so-called artificial aggressins. In order to represent more clearly the only methods that have been successfully employed in the attempts to produce immunity in rabbits, and to show the results obtained by these methods, the accompanying tables (20, 21, 22 and 23) are presented. These embody the method and results of Weil (op. cit.) and of Citron and Pütz (op. cit.), since these have proved more successful than any others in securing active immunity in rabbits against the fowl cholera organism.

Table 20.

Method of Weil („natural aggressins").

Begin with $^1/_2$ c. c. sterilized pleural exudate from rabbits, subcutan.
After 8 days, $^1/_2$ c. c. „ „ „ „ „ „
After 8 days, 3 c. c. „ „ „ „ „ „
After 8 to 14 days, infection with $^1/_{10}$ oese of Culture[1])
Resulted in infiltrate size of bean; reabsorbed (in one case there was no reaction).

Table 21.

Method of Citron and Pütz („artificial aggressins"): a) serum-extracts.

At beginning 2.5 c. c. serum-extract, subcutan.[2])
After 22 days 2.5 c. c. „ „ „
After 20 „ 2.5 c. c. „ „ „
After 20 „ $^1/_{100\,000\,000}$ oese of culture, subcutan.
After 9 „ $^1/_{100}$ „ „ „ „
After 11 „ $^1/_{10}$ „ „ „ intravenous.

After the last inoculation the animal became much emaciated and was bled after 20 days.

Table 22.

Method of Citron and Pütz („artificial aggressins"): b) water-extracts.

At the beginning 2.5 c. c. water bacterial extract, subcutan.
After 24 days, 2.5 c. c. „ „ „ „
After 22 „ 2.5 c. c. „ „ „ „
After 21 „ 2.5 c. c. „ „ „ „
After 19 „ $^1/_{100\,000\,000}$ oese of living culture, subcutan.
After 9 „ $^1/_{100}$ „ „ „ „ „
After 11 „ $^1/_{10}$ „ „ „ „ intravenous.
After 2 „ the rabbit died (fatal termination delayed).

Table 23.

Method of inoculation with Culture 52.

At the beginning, 0.00000001 c. c. (or more) of a 48-hour bouillon culture of 52, subcutaneous (followed, in 10 days to 3 weeks or less, by infiltration, abscess, drainage and healing).

After six days, the animal tolerates 2 c. c. of living culture subcutaneously (followed by no reaction or by a slight infiltration which subsides).

A study of Tables 20, 21, 22 and 23 shows clearly that, so far as resistance to large amounts of virulent cultures in concerned, the present method of using an homologous culture is not less effective than the method of Weil involving inoculations with pleural exudates. It may possibly be more efficient than Weil's method, since his rabbits were not tested for resistance to infection with such large amounts of pure culture as those employed in the present investigations. It may be said, however, that there can be little talk of degrees of efficiency when a stage of resistance is reached, in which the protected animal tolerates two cubic centimeters of virulent culture as shown in Table 8, or $1^1/_2$ c. c. of unsterilized pleural exudate as ascertained by Weil.

When the present method is compared with that of Citron and Pütz, it is apparent that the method of these writers, is greatly inferior; so much so, in fact, that the degree of resistance obtained by them in rabbits can, with justice, scarcely be spoken of as immunity. There is hardly an instance among the cases cited by them (1907) in which, after a strong infection with living cultures, the inoculated

1) Some animals received as much $1^1/_2$ c. c. of unsterilized exudate, and occasionally the infection was given after eight days, with the same favorable results. In one instance a single dose of 5 c. c. of exudate produced immunity.

2) Citron and Pütz do not mention, in any instance, the nature of the reaction at the site of the inoculation.

animals regained good health. Although the condition which we term resistance shades into actual immunity through imperceptible stages, one must, as Weil has pointed out, distinguish between a resistance which merely delays the fatal issue, and one which enables the animal to tolerate millions of times the minimum fatal dose; it is only this latter condition that can be regarded as actual immunity. Considering matters in this light, it can certainly be said that Citron and Pütz by their method have not produced immunity in rabbits to strong infections with the organism of fowl cholera.

With the exception of the work of Weil, the same can be said of nearly all other attempts. We may therefore make a few comparisons between the results secured by the method of Weil and those outlined in this paper.

First, regarding the number of protective inoculations required to produce immunity: Weil's best results were obtained when he inoculated the exudate three times successively, at intervals of eight days, thus requiring about two weeks for the production of immunity. In one case, however, the single inoculation of 5 c. c. of sterilized exudate was followed by resistance to $^1/_{10}$ oese of living culture; but this was an exception to the other cases recorded, and does not appear to have been repeated. When contrasted with Weil's results as a whole, it is apparent that a single inoculation with Culture 52 produced equivalent results within a much shorter period. This could hardly have been anticipated in the case of the bacteria of fowl cholera, although analogous instances are known in connection with other pathogenic bacteria. It could have been expected least of all as a result of an intravenous inoculation with 15 minims of Culture 52, since it is usually assumed that a certain amount of local reaction in the tissues is necessary for the production of the protective substances, such as ordinarily resulted from the subcutaneous inoculations. Needless to say, this could not happen in the case of intravenous inoculations, and yet in one instance complete protection resulted as shown in Table 2.

Since we are dealing, on the one hand, with sterilized material (Weil's pleural exudates), and on the other, with living organisms (Culture 52), there can be no satisfactory comparison of the amounts used for inoculation in either case. Tentatively assuming the actuality of the aggressin-theory as first stated by Bail and as later applied by Weil to fowl cholera, it might be supposed that in a very small amount of Culture 52 (perhaps 0.000 000 01 c. c.), there could be inoculated the potential for a higher aggressin-forming power than is represented by 3 c. c. of Weil's sterile exudates, the smallest total amount injected by Weil to secure immunity. Regarding this point, it is clear from Experiment 5 (Table 7), that even 0,000 000 01 c. c. of Culture 52 can determine in the animal's body the liberation of those protective elements, which, according to Bail, Weil, and others, are to be viewed as "anti-aggressins".

Next, regarding time within which immunity first appears in inoculated animals: It is demonstrated in Table 9 that on the seventh day after infection with Culture 52, the rabbit was able to tolerate 1 1-trillionth c. c. of the virulent culture. This clearly indicates that on the seventh day the animal possessed complete immunity, since only completely immunized animals are able to withstand 0.000 000 000 001 c. c. of the virulent Culture 48. Attention has already been called to the

fact that, as early as 48 to 60 hours after the protective inoculation, the rabbits manifested an appreciable resistance, exhibited by a delay in the fatal issue; and it is possible that some of these rabbits would have been able to fully resist the M. L. D. of the infecting organism, had this, rather than larger amounts of culture, been inoculated. Comparing these results with those of Weil, it may be noted that Weil's rabbits were immunized in twelve days.

The duration of the immunity obtained through inoculation with Culture 52 cannot be stated definitely at this time, although it is known that in certain rabbits it has already been maintained for at least 1 year and 10 months (Table 10). It seems probable that this resistance is permanently acquired.

The foregoing statements suggest a discussion of the type of immunity under consideration. Theoretically there are at least three types of immunity, with any one of which, the form of resistance now being considered might be allied. These are (1) bactericidal or antitoxic immunity; (2) the aggressin immunity of Bail, Weil and others; (3) an immunity conditioned primarily by phagocytosis (including the so-called opsonic immunity). To ascertain which one of these types of resistance (or possibly what combination of them) is concerned in effecting the immunity under consideration, is apparently a matter of some difficulty. In connection with the haemorrhagic septicaemias as a whole, much contradictory testimony exists regarding the presence of phagocytosis, of opsonins, of "antiphagines", of endotoxins, and of bactericidal or bacteriolytic substances in immunized or in naturally-resistant animals. Although this question cannot be entered upon at the present time, it may be said that Weil has given good evidence in favor of the view that the type of immunity present in cholera-immune animals depends, not upon phagocytosis nor upon bactericidal properties of the serum, but upon some "special function of the complement" which works through its ability to counteract what may be called the aggressiveness of the cholera organisms.

Practically no data bearing upon the mechanics of immunity have appeared in this paper, and it would not be feasible, at this time, to enter into a discussion of the matter on the basis of any of the experiments here reported. Since, however, the aggressin theory, for some years strongly upheld by Weil, is considered by him as playing so important a rôle in immunity against fowl cholera, it may be of interest to inquire to what extent this view is supported be the data in hand.

First, it may be stated that the category of negative evidence often brought forward to demonstrate the absence of phagocytosis as well as of those bactericidal properties which one would expect to see operating in the case of bactericidal immunity, can be confirmed for the present case. Cultures made from the pus of subcutaneous abscesses [1]) showed the presence of typical cholera organisms possessing a full degree of virulence for other rabbits. Histological examination also revealed the presence of such organisms, and showed in addition that, although

1) As indicated in the text above, the inoculation of protected animals with Culture 48 frequently produced no reaction. Small abscesses were, however, occasionally formed; and these were used for the cultures now being considered.

they were surrounded by an immense number of leukocytes, there was no evidence of phagocytosis. This resulted from the examination of both subcutaneous and intraperitoneal exudates. Weil (1905, 1908), also absolutely denies the presence of phagocytosis, and even has gone so far as to say that no intracellular nor extracellular material composing the leukocytes plays a rôle in the protection of the immunized animal. Metchnikoff, however, and others of his school have pointed out that the fowl cholera bacteria are among the smallest known organisms and care should be taken not to overlook them in the bodies of the leukocytes. Since the writer has used only the ordinary methods of examination, it cannot yet be stated whether phagocytosis played any part in the resistance under discussion [1]). It seems very probable, however, that even if present, its activity cannot be great.

Although it is not intended to discuss further, at the present time, the nature of the immunizing process, the relation of two phenomena intimately connected with it should be referred to, — namely attenuation and the ability to produce local reaction at the site of inoculation. The fact has already been emphasized that these two characteristics, in the case of the bacterium of fowl cholera, seem to have nothing in common with the ability to produce resistance. Although a culture in order to immunize must be attenuated, such attenuation does not necessarily or even commonly, imply the presence of an immunizing power. Moreover, the ability of organisms to grow at the site of inoculation and to produce there a restricted infiltration and abscess, is by no means an indication that immunity will result from the process. This fact is sufficiently proved by data reported in this paper, since it has been shown that of the ten fowl cholera cultures, all of which were able to produce strong local reactions, only one was able to confer immunity. The local lesion resulting from subcutaneous inoculation with Culture 52 was usually no more severe than those resulting from inoculations with other slightly virulent cholera cultures. If the ability of the organism to multiply at the point of inoculation is to be explained on the theory of its aggressiveness, as maintained by Bail, Weil, and others, then this aggressiveness would appear to be equally great for all the cultures studied, — provided one uses as a criterion the size of the infiltration and abscess. But, if one pursues further this method of reasoning, and assumes with Bail and Weil that equal degrees of aggressiveness should serve to develop in the animal's body equal amounts of protective substances — the "anti-aggressins" — then there is no apparent reason why equal local reactions should not be accompanied by approximately equal degrees of resistance. This is manifestly not the case, and whether the circumstance can be explained on the grounds of the reciprocal relation of homologous cultures remains to be ascertained. At present it does not appear to harmonize with the aggressin-theory of immunity as given by Weil, but seems to indicate that the aggressiveness, per se, of fowl cholera cultures cannot wholly explain aggressin-immunity in this disease.

---

1) Tchistovitch (1909) has called attention to "antiphagines", which, according to his view, are liberated by the organisms, and tend to prevent phagocytosis. Washed bacteria were more easily phagocyted than bacteria that were not washed. These observations remain to be confirmed, although they agree with those of Rosenow (1907) for the pneumococcus.

The question now arises. — What is the cause of the protective power manifested by Culture 52? Why does this strain protect against Culture 48 when other cultures do not? An explanation for this circumstance is first naturally sought in the cultural features of the two strains. In Table 1, it is shown that Cultures 48 and 52 are what may be called homologous cultures; that is, their cultural features are approximately the same. With respect to these two cultures, all the other cultures in the series are heterologous; and, as already demonstrated, they furnished little or no protection. It is thus apparent, that Cultures 48 and 52 have an important biological relation, the nature of which is, as yet, by no means clear.

This point naturally leads us to a more general consideration of the rôle, in the production of immunity, of what are here termed homologous cultures. It has frequently been shon, especially in connection with pneumococcus infections (which, in the general absence of phagocytosis that characterizes them, much resemble the haemorrhagic septicaemias), that, when the organisms possess a moderate or slight virulence, a high degree of opsonic immunity for the homologous [1]) culture could be obtained [2]). Such opsonic immunity has not, however, been produced in the case of strains possessing high virulence, although, according to Strouse (op. cit.), Böttcher (1910) claims to have protected mice against "moderately" virulent strains of the pneumococcus by previous inoculation with avirulent cultures. Although the greater therapeutic value of sera and vaccines which are derived through the use of „personal" or „autogenous" cultures appears to be generally accepted, little attention has apparently been given to the cultural characteristics of different strains of the same species of microorganism as bearing upon the possibility of immunization by means of them. One can easily believe (and the results of the experiments presented in this paper strongly point to the fact) that there is considerable difference, with respect to physiological activity, between cultures attenuated artificially by chloroform, heating, etc., and naturally avirulent — or slightly virulent (naturally attenuated?) — cultures. Numerous attemps have been made to immunize rabbits against highly virulent cultures of the fowl cholera organism by means of the same culture, attenuated artificially by heat or in some other way; and these attempts have invariably failed. In this paper it has been demonstrated that the attempted production of resistance by inoculations with heated cultures of 48 was only partially successful. It is also indicated that resistance cannot be secured by inoculation with a small but increasing number of living organisms since inoculation with even four organisms (and in all probability, with even a single bacterium) determines a fatal issue. And yet, by means of a natural, luxuriously-growing culture — one possessing exactly the same cultural features as those of Culture 48, but at the same time endowed with slight virulence — a complete and permanent [3]) active immunity to highly virulent strains was produced. It is thus suggested that the production of immunity, in this case at least, may be in some way associated with those physiological properties of organisms which are also correlated with high virulence.

1) The term, homologous, is used in this sense to indicate the same strain by means of which the opsonic reaction was secured.

2) For data on this point, see Strouse (1911).

3) The immunity has endured for 1 year and 10 months to date, February, 1913.

That such correlation is necessary, cannot, however, be affirmed; it is merely indicated by the fact that, of nine other strains of the cholera organism characterized by different cultural features, none was capable of producing immunity, although all of them were able to produce a strong local reaction at the point of inoculation.

A point which remains to be answered is whether Culture 52 will prove effective in producing resistance against other highly virulent, and perhaps heterologous, strains of the fowl cholera organism, if such can be found. Until this point is settled, it cannot be stated whether the immunity produced by inoculations with this culture is in virtue of its homologous (with Culture 48) character, per se, or whether it is to be found in some other, more obscure feature of the organism, not exhibited through any of its more obvious cultural peculiarities. In Table 18 data have been presented which demonstrate that Culture 52 furnishes complete protection against at least three other very virulent strains, the only ones which it has been possible to procure up to the present date. As yet the cultural features of these strains, which were obtained through Král's laboratory in Vienna, have not been studied; and it its therefore impossible to state whether they resemble Cultures 48 and 52 in their cultural characteristics. This question will be studied further as soon as other virulent cultures are received. In the meantime it might prove interesting, in the case of other septicaemias of the haemorrhagic type, and also in pneumococcus infections, to study the rôle, in the production of immunity, of homologous cultures of low virulence. Such cultures could undoubtedly be found, if a sufficient number of strains from laboratory collections or from mild clinical cases were collected and systematically studied.

In concluding this paper, it may be well to consider briefly the bearing of the results here presented upon the formulation of practical measures for controlling fowl cholera; and it may be said in passing that these considerations may also be applicable to some other diseases of the same type (haemorrhagic septicaemia) among swine and cattle. It may be said, however, that the results already obtained point to the fact that the method of active-immunization described in this paper, might, in modified form, be successfully applied to fowls. It is still too early to forecast the possibilities of passive immunization for fowls, although there are good grounds for believing that this method may be found to furnish valuable protection for rabbits. Whether one will be justified in using generally for fowls a living vaccine in the form of Culture 52 must be ascertained by resort to experiments which are calculated to increase by any method that can be devised, the present low virulence of this culture. Such experiments are under way, and until their results are clear, the general use of Culture 52 as a vaccine for fowl cholera in poultry cannot be recommended.

In closing, it should be said that the present study makes no pretence of being complete. It has been planned and executed merely as a general survey of some of the more obvious conditions relating to the production of immunity in rabbits, and thereby to serve as a basis for further immunological studies.

IV. Summary.

The present paper describes certain aspects of an active immunity produced in rabbits against infection with virulent cultures of the fowl cholera organism. The method involved inoculation with a living bouillon culture of a much attenuated, homologous strain. The following points have been made clear:

1) Among ten different strains of the fowl cholera bacterium investigated for their resistance-producing power, one (Culture 52), was discovered which was capable of producing perfect immunity in rabbits to highly virulent cultures: this immunity was secured by means of subcutaneous, intravenous, and also intraperitoneal inoculations.

2) That the resistance in question was not a local, or "zonal" immunity, was shown by inoculating previously protected rabbits in the ear, flank or back; also by intravenous and intraperitoneal inoculations, none of which were fatal.

3) The smallest amount of Culture 52 yet used to produce immunity in rabbits is 0.000 000 01 c. c.; but amounts as large as 3 c. c. were tolerated, and gave similar results. Smaller amounts would, in all probability, also afford resistance.

4) The resistance produced by inoculation with Culture 52 was sufficiently strong to protect against at least 2 c. c. of virulent culture.

5) In protectively-inoculated rabbits a slight resistance was manifested within two to four days, but complete immunity, sufficient to fully protect the animal, did not appear until the seventh day after the inoculation with Culture 52.

6) Complete immunity to the virulent culture has been found to endure in protected rabbits for at least 1 year and 10 months; it is, in all probability, permanently acquired.

7) The simultaneous inoculation of Culture 52 (amounts from 0,001 c. c. to 1 c. c.) and Culture 48 (0.001 c. c.) proved fatal in all cases; but the inoculation of 0.5 c. c. of Culture 52 together with 0.000 000 001 c. c. of Culture 48, prevented a fatal termination.

8) Attempts to produce resistance in rabbits by the inoculation of dead or attenuated (by heating) cultures of Strains 52 and 48 have succeeded in a number of cases. The immunizing value of killed Culture 52 is greater than that of killed Culture 48.

9) Immunity to Culture 48 is inherited: Does, six to thirteen months after their protective inoculation, have given birth to young possessing, at the age of thirty days, complete resistance to 0.01 c. c. of the virulent culture; but no cases have been met with in which the young, at the age of sixty days, were still immune.

10) The inherited acquired immunity of young rabbits can, by means of one inoculation with virulent culture, be transformed into an active immunity of high efficiency, which is apparently lasting.

11) The natural resistance possessed by guinea-pigs to the fowl cholera organism, can be so raised by subcutaneous inoculation with Culture 52, that both subcutaneous and intraperitoneal inoculations with the virulent culture are easily tolerated.

12) In a few preliminary tests a moderate degree of resistance in pigeons and fowls to a virulent culture of the fowl cholera bacterium has been produced by subcutaneous and by intramuscular, inoculations with Culture 52; but this method for birds is as yet, less reliable than for rabbits.

13) Inoculation with Culture 52 has been found to protect rabbits, not against virulent Culture 48 alone, but also against the only other (three) highly virulent cultures obtained at the present time.

14) As the result of subcutaneous inoculation with 0.5 c. c. to 1 c. c. of serum, derived from an actively-immunized rabbit, nine months after immunization, the fatal issue in infected rabbits has been delayed from 14 hours to four and five days.

15) Many of the phenomena observed in this study make it appear that the immunity being considered is an aggressin-immunity in the sense that this term is employed by Bail, Weil, and others. But the observation that various attenuated cultures all of which possess about the same ability to grow at the point of inoculation (implying, according to this theory, approximately equal aggressiveness) demonstrate by no means equal resistance-producing powers, suggests that the aggressins and "anti-aggressins" do not wholly explain the immunity in these cases.

16) These investigations are being continued with special reference to (1) the production of active immunity in birds; and (2) the production of passive immunity in rabbits.

V. Literature cited.

Bail, O., Untersuchungen über Typhus- und Choleraimmunität. (Arch. f. Hyg. Bd. 52. 1905. p. 272—377.)

Bettencourt, Contribution à l'étude des aggressines. (Arch. do Real Instit. Bacteriol. Camara Pestana [Lisbonne]. Vol. 1. 1907. p. 77—91.)

Böttcher, Untersuchungen über Bakteriotropine des Blutserums bei Pneumokokkeninfektionen von Kaninchen und Menschen. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 98. 1910. p. 93.)

Cagny, Rec. de la méd. vét. (Alfort). 1885. p. 130.

Citron, J., u. Pütz, R., Ueber die Immunisierung gegen Hühnercholera, Wild- und Schweineseuche mit Bakterienextrakten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56. 1907. p. 145—174.)

—, Ueber die Immunisierung mit Exsudaten und Bakterienextrakten. ((Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1905. p. 153.)

Foà u. Bonome, Ueber Schutzimpfungen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1888. p. 413—427.)

Hadley, Philip B., Studies on fowl cholera: I. A biological study of ten strains of the fowl cholera organism. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1911. p. 323—335.)

— and Amison, Elizabeth, E., A biological study of eleven pathogenic microorganisms from cholera-like diseases in poultry. (R. I. Agr. Expt. Sta. Bull. 146. 1911. p. 43—102.)

Hess, Schutzimpfung gegen Cholera der Hühner, auch Hühnerpest genannt. (Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. 28. 1886. H. 3.)
Huntemüller, Immunisierung gegen Hühnercholera mit Aggressinen und Bakterienextrakten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1906. p. 170.)
Jess, Zur Technik der Schutzimpfung gegen Geflügelcholera. (Berlin. tierärztl. Wochenschrift. 1899. H. 4.)
Kitt, Th., Septikämie der Vögel (Hühnercholera). (Handb. d. pathog. Mikroorgan., Kolle und Wassermann, Jena 1903.)
— u. Mayer, Ueber Resistenzerscheinungen und Serumwirkungen bei Geflügelcholera und Schweineseuche. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 8. 1898.)
Klett u. Braun, Ueberblick über Versuche zur Bekämpfung der Geflügelcholera und der Schweineseuche (Schweinepest). Dtsche tierärztl. Wochenschr. Bd. 12. 1904. p. 545—547.)
Lignières, J., Pasteurellose aviaire (choléra des poules). (Bull. de la Soc. centr. de méd. vét. Paris. Nouv. Sér. T. 18. 1900. p. 332—356.)
Pasteur, L., Sur les maladies virulentes et en particulier sur la maladie appellée vulgairement choléra des poules. — Sur le choléra des poules, études des conditions de la non-recidive de la maladie et de quelques de ses autres charactères. — De l'atténuation du virus du choléra des poules. (Compt. Rend. Acad. d. Scienc. T. 91. 1880. p. 239, 673, 952, 1030; also Rec. de méd. vét. 1880. p. 125, 419, 422, 1062.)
Perroncito, Epizoozia tifoide nei gallinacei. (Ann. d. Acc. di Agric. di Torino. Vol. 21. 1878.)
Rosenow, E. C., Human pneumococcal opsonin, and the anti-opsonic substance in virulent pneumococci. (Journ. Infect. Dis. Vol. 4. 1907. p. 285—296.)
Schöbl, O., Untersuchungen über passive Immunität bei Hühnercholera. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 285.)
Schoukevitch, Recherches sur l'immunité des lapins contre le B. suipesticus. (Ann. de l'Instit. Pasteur. T. 9. 1910. p. 728.)
Sizoff, P. W., Anti-fowl cholera serum and its practical significance. (Original in Russian. Arch. vet. Nauk. St. Petersb. Bd. 40. 1910. [7.] p. 804—818. Abstr. in Zeitschr. f. Immunitätsf. Ref. II. 1910. 3. [7.] p. 822.)
Strouse, S., Phagocytic immunity in pneumococcus infections and in pneumonia, with relation to the crisis. (Journ. Exper. Med. Vol. 14. 1911. p. 109.)
Sulima, A., Sur le rôle des leucocytes chez les animaux neufs et immunisés, infecté artificiellement par le microbe du choléra des poules. (Ann. de l'Instit. Pasteur. T. 23. 1909. p. 911—920.)
Toussaint, Rec. de méd. vét. (Alfort). 1879. p. 946.
Tchistovich, N., Sur les antiphagines du microbe du choléra des poules. (Ann. de l'Instit. Pasteur. T. 23. 1909. p. 834—840.)
Trincas, L., Sulla batteriologia del cosiderto colera dei polli. (Giorn. R. Soc. Ital. d'Ig. Vol. 30. 1908. p. 385—396.)
Voges, O., Kritische Studien und experimentelle Untersuchungen über die Bakterien der hämorrhagischen Septikämie und die durch sie bewirkten Krankheitsformen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 23. 1896. p. 149—264.)
Wassermann, A., u. Citron, J., Ueber die Bildungsstätten der Typhusimmunkörper. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 50. 1905. p. 331—348.)
Weil, E., Untersuchungen über Infektion und Immunität bei Hühnercholera. (Arch. f. Hyg. Bd. 52. 1905. p. 413—432.)
—, Die schützenden Eigenschaften des Blutes von Aggressin-immunen Hühnercholeratieren. (Arch. f. Hyg. Bd. 54. 1905. p. 149—183.)
—, Kritik der Immunisierungsversuche gegen Hühnercholera mit Bakterienextrakten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56. 1907. p. 509—515.)
—, Das Hühnercholeraaggressin und seine Wirkungsweise. (Arch. f. Hyg. Bd. 65/66. 1908. p. 81—106.)
—, Untersuchungen über den Mechanismus der nicht-bakteriziden Immunität. (Arch. f. Hyg. Bd. 61. 1907. p. 293—323.)
—, u. Braun, H., Welche Bedeutung besitzt die Bakterizidie des Hühnercholeraimmunserums für seine Schutzwirkung? (Fol. Serolog. Vol. 2. 1909. p. 151.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen zur Theorie der Desinfektion[1]).

[Aus dem k. k. Hygienischen Institut der Jag. Univ. zu Krakau Vorstand: Prof. O. Bujwid)].

Von Dr. **Philipp Eisenberg,**
derzeit Assistent am Hygienischen Institut zu Breslau,
und **Marie Okolska.**

Plan und Technik der Versuche.

In einer gleichzeitig erscheinenden Arbeit hat der eine von uns (E.) über ausgedehnte Versuche betreffend die Hämolyse durch chemisch wohldefinierte Agentien berichtet, die in mancher Richtung nicht uninteressante Ergebnisse geliefert haben. Nun hat die Immunitätsforschung der zwei letzten Dezennien bemerkenswerte Analogien zwischen den Vorgängen der Hämo- und Bakteriolyse aufgedeckt und sind seither vielfach Beobachtungen auf einem Gebiet zum Ausgangspunkt analoger Untersuchungen auf dem anderen geworden. So schien es uns denn der Mühe wert, die auf dem Gebiet der Hämolyse gewonnenen Erfahrungen über synergetische und antagonistische Wirkungen sowie über den Wirkungsmechanismus verschiedener Hämolytika auf das Studium der Desinfektion zu übertragen und hier nach dem Bestehen ähnlicher Gesetzmäßigkeiten zu suchen. Die Untersuchungen, über deren Ergebnisse hier vorläufig berichtet wird (sie wurden im November 1911 bis Januar 1912 ausgeführt), haben denn auch vielfach dieser Erwartung entsprochen und auch die geringen Abweichungen, die zutage traten, erwiesen sich als rationeller Deutung zugänglich. Bezüglich der Technik unserer Versuche sei bemerkt, daß von der Anwendung komplizierter Methoden, wie sie von Krönig und Paul in die Desinfektionslehre eingeführt worden sind, abgesehen werden konnte, da es nur auf Vergleichswerte und nicht absolute Zahlen ankam und da anderseits die Vorteile dieser Methode durch die Einführung von Schädigungen der Bakterien (Trocknen, Waschen) vielleicht zum Teil aufgewogen werden. Als Testobjekt dienten meistens Typhusbakterien, und zwar wurde von jungen 15—20-stündigen Agarkulturen eine Aufschwemmung in 0,5-proz. NaCl-Lösung oder (meistens) in destilliertem Wasser hergestellt (der Belag eines normalen Schrägagars im 100 ccm und sodann 0,1 oder 0,2 ccm davon mit entsprechenden Mengen der Antiseptika (alle benutzten Stoffe waren reine Präparate von Kahlbaum oder Merck) in 1 ccm Gesamtvolumen in engen kleinen Eprouvetten zusammengebracht. Bei Kochsalzaufschwemmungen war 0,5-proz. NaCl-Lösung, bei wässerigen Aufschwemmungen destilliertes Wasser das Verdünnungsmilieu. Die Proben verblieben $2^1/_2$—6 Stunden bei Zimmertemperatur, sodann wurde eine große Oese (stets dieselbe) des gut durchgemischten Materials auf der Oberfläche eines (nicht zu feuchten) Schrägagarröhrchens verstrichen.

1) Ein Teil der hier veröffentlichten Befunde wurde ganz kurz von einem von uns (E.) bei der 6. Tag. der Freien Vereinigung für Mikrobiologie am 31. Mai 1912 anläßlich der Diskussion über den Küsterschen Vortrag mitgeteilt (s. Bericht. Diese Zeitschr. I Abt. Ref. 54, Beilage p. 140). Durch die Ungunst äußerer Umstände ist die Drucklegung der im Oktober 1912 niedergeschriebenen Arbeit verzögert worden, ebenso diejenige der Hämolyse-Arbeit von E.

Diese Röhrchen wurden nach 20—24-stündigem sowie nach paartägigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° C auf eventuelles Wachstum kontrolliert. Da es nur darauf ankam, vergleichbare Abtötungswerte zu bekommen, brauchten wir nicht die Anzahl der eingesäten sowie überlebenden Keime exakt festzustellen, sondern es genügte, in grober Annäherung die Abnahme zu charakterisieren. Es wurden also dichte konfluierte Rasen, wie sie meist die Einsaat ergab, mit +++, etwas weniger dichte (etwa 2000—10000 Kolonieen) mit ++, noch spärlicher bewachsene (etwa 200—1000 Kolonieen) mit +, sterile mit — bezeichnet, Kolonieenzahlen bis zu 100 hinauf ließen sich bequem abschätzen.

Wir sind uns wohl bewußt, daß der hier geschilderten Methodik manche Mängel anhaften, doch dürften diese nicht allzu groß sein und das prinzipielle Ergebnis unserer Versuche kaum beeinflussen. Erstens wurde unterlassen nach Abschluß des Versuchs das noch vorhandene Antiseptikum zu entfernen oder zu neutralisieren (mit Ausnahme der noch besonders zu besprechenden $HgCl_2$-Versuche), doch sind erstens für die Mehrzahl der hier benutzten Stoffe derartige Methoden nicht bekannt, zum Teil aber dürfte der entwicklungshemmende Einfluß der minimalen in einer Oese der Mischung enthaltenen Menge des Antiseptikums nur ein untergeordneter sein, wenn man die große Fläche bedenkt, auf der sie ausgestrichen wird. Einige spezielle darauf hin gerichtete Versuche, in denen die Aussaat einerseits wie oben auf Schrägagar, anderseits in 10 ccm Bouillon kam, zeigten, daß bei letzterer Methode, wo die ca. 1000-fache Verdünnung den Einfluß der Reste des Antiseptikums ausschalten soll, nicht merklich bessere Resultate erzielt wurden, als bei der gewöhnlich von uns geübten. Die Plattenaussaat, die an quantitativer Exaktheit der Zählung der Schrägagaraussaat überlegen ist, hat aber den nicht zu vernachlässigenden Nachteil, daß die durch die Antiseptika geschädigten, aber nicht abgetöteten Keime einer neuen Schädlichkeit ausgesetzt worden.

Synergetische Versuche.

Der erste Teil unserer Untersuchungen galt der Frage des Synergismus von desinfizierenden resp. entwicklungshemmenden Stoffen. Während die entsprechenden Versuche auf dem Gebiete der Hämolyse meist nur theoretisches Interesse beanspruchen konnten, handelt es sich hier um Fragen, die außer ihrer theoretischen Bedeutung auch für die Praxis der Antisepsis sowie für die Desinfektionstechnik nicht unwichtig sind. Gelingt es durch irgendwelche Zusätze die Leistungsfähigkeit unserer Antiseptika zu erhöhen, so können wir daraus außer dem ökonomischen Vorteil noch den Gewinn ziehen, daß eine geringere Menge von giftigem Stoff (das sind ja die meisten Antiseptika für uns) mit dem menschlichen Körper oder mit unseren Gebrauchsgegenständen in Berührung zu kommen braucht. Auch für die Fragen der Chemotherapie bakterieller oder protozoischer Infektionen kämen solche Gesichtspunkte in Betracht. Sodann kann es von Bedeutung sein zu wissen, welchen Einfluß auf die Wirkung von Antisepticis die gebräuchlichen Konstituentia der Salbe oder Zusätze zu ihren Lösungen ausüben (Breslauer, v. Wunschheim, Scholtz u. Gelarie, zahlreiche Untersuchungen über den Einfluß von Seifenzusätzen), ebenso wie durch solche Zusätze die konservierende Wirkung mancher Stoffe beeinflußt wird (Ficker). Planmäßige Untersuchungen über den Synergismus von Antisepticis liegen bis jetzt, abgesehen von praktischen Fragestellungen, nur ziemlich spärlich

vor (Scheurlen, Scheurlen u. Spiro, Spiro u. Bruns, Spiro, Beckmann, Paul u. Krönig, Weyland, Römer, Reichel, Beyer, gelegentliche Bemerkungen von Bürgi).

Den Ausgangspunkt dieser Untersuchungsreihe bildete die schon lange bekannt gewordene und vor kurzem in einer sehr interessanten Arbeit von Reichel eingehend studierte Beobachtung, daß Neutralsalze die Wirkung von Phenolen erhöhen, während sie diejenige von $HgCl_2$ herabsetzen. Bevor wir daran gehen konnten, die Beeinflussung anderer Antiseptika durch Neutralsalzzusätze zu untersuchen, mußte zuerst die Eigenwirkung der Neutralsalze in Betracht gezogen werden. Während die Entwickelungshemmung und Desinfektionswirkung von NaCl in Anbetracht ihrer praktischen Bedeutung viel studiert worden ist, verfügen wir in der Literatur über fast keine Angaben betreffs der antiseptischen Wirkung von anderen Neutralsalzen. Unsere diesbezüglichen Versuche, die nur nebenher als Kontrollen bei den synergetischen Versuchen angestellt wurden, haben gezeigt, daß es neben sehr schwach wirksamen Salzen (NaCl, Na_2SO_4, $MgSO_4$, Natriumglyzerophosphat) auch stärker wirksame gibt (LiBr, NaBr, $CaCl_2$), die in nicht allzu starken Lösungen innerhalb einiger Stunden Typhusbakterien abzutöten imstande sind. Es wird wohl ein lohnendes Unternehmen sein, diese Versuche auf eine größere Reihe von Salzen auszudehnen und sie sowohl zeitlich und quantitativ noch mehr zu variieren, als es uns bis jetzt möglich war. Man würde durch eine solche Untersuchungsreihe eine Grundlage für die kolloidchemische Betrachtung der antiseptischen Wirkung der Neutralsalze gewinnen, wie sie in ihren interessanten Studien über die Entwicklungshemmung durch Neutralsalze v. Eisler sowie Kiss, geschaffen haben. Man könnte dann sich auch ein Urteil bilden über den Anteil der Anionen und Kationen an dieser Art von „Neutralsalzwirkungen", eventuell dieselben mit der Hemmung von Stoffwechsel und Bewegungsvorgängen in Parallele bringen (Lipman, A. Fischer). Nach dem vorliegenden beschränkten Beobachtungsmaterial zu urteilen, scheinen hämolytisch stärker wirksame Salze auch stärker desinfiziernd zu wirken. Durch Verwendung von sehr empfindlichen Bakterienarten hat man es in der Hand, auch bei wenig löslichen oder sehr schwach wirksamen Neutralsalzen Ausschläge zu bekommen und auf diese Weise ein vollständigeres Vergleichsmaterial zu erzielen. Doch selbst bei Milzbrandsporen gelingt es mittels der wirksameren Salze bei längerer Einwirkungsdauer Abtötung herbeizuführen. Worauf die beschriebene Desinfektionswirkung der Neutralsalze beruht, wäre nicht leicht zu entscheiden. Jedenfalls scheint uns die osmotische Störung allein zu ihrer Erklärung nicht zu genügen und möchten wir die Möglichkeit einer Salz- (oder Ionen?) aufnahme in die Bakterienzelle auch bei den semipermeablen, plasmolysierbaren gramnegativen Arten mit Rücksicht auf manche in der Literatur niedergelegte Beobachtungen (Osterhout, A. Fischer, Lipman) besonders hervorheben. Dafür spräche vielleicht auch die von uns gefundene Tatsache, daß die wirksamsten Salze diejenigen sind, die größte Lipoidlöslichkeit aufweisen (wie bei der Hämolyse).

Stärkere Desinfektionswirkungen als die Neutralsalze entfalten alkalische Salze, wie K_2HPO_4, $KAsO_2$, Natriumsalizylat wahrscheinlich dank dem abgespaltenen Alkali ebenso, wie dies der Fall ist bei der Hämolyse.

Was nun die anderen in den synergetischen Versuchen geprüften Stoffe betrifft, waren es außer anerkannten Antisepticis, wie Alkohol,

Aceton, Pyridin, Chloralhydrat, Natriumsalizylat, Anilin, Ameisensäure, Pikrinsäure, $KMnO_4$, KJO_4, $HgCl_2$ auch solche, deren Wirksamkeit an sich sehr gering oder auch Null ist, wie Aether, Natriumglykocholat, Harnstoff, Natriumoleat. Diese Stoffe, obgleich an sich wenig wirksam oder unwirksam, wurden herangezogen, weil sie zum Teil ausgesprochene Hämolytika sind und die Vermutung nahe lag, daß sie unter Mitwirkung geeigneter Zusätze antiseptische Wirkungen entfalten würden. Wie Tabelle I zeigt, die eine Gesamtübersicht über die synergetischen und antagonistischen Versuche bringt, hat sich diese Hoffnung erfüllt.

Tabelle I.

Zeichenerklärung: ++ starke, + mäßige, ⊕ schwache Förderung; ⨯⨯ starke, ⨯ mäßige, ⊖ schwache Hemmung; 0 keine, ? fragliche Beeinflussung.

Desinficiens	Zusatz: ges. NaCl	ges. NaBr	ges. $CaCl_2$	ges. LiBr	ges. NaFl	Natriumglyzerophosph. 50 Proz.	ges. Traubenzuckerlösung	Aethylalkohol	Aceton	Phenol	Aether	Natriumsalicylat	Harnstoff	ges. Chinin-HCl-Lösung	KOH	ges. K_2HPO_4 Lösung	KCN
lkohol	+	++	+		+	+	⨯							0	+	+	
ceton	+	++				+					++			++		++	
henol	++	+		++	+	++		+			0			+		+	
Kresol	+	⊕	⊕	++			0	0	0		?	+	+	++	?	+	
atriumglykocholat	++	++	++	++		++		+			⊕			0		⊕	
hloralhydrat	+	++	+	++	++	++		++			+			++			
atriumsalizylat	+	+	+				⨯	⊕		++	+			0		+	
arnstoff	⨯	0	⨯	0				⊕	+	+	0	+		0	⊕	+	
atriumoleat	++	+		+			0	⊕	+	0	+	⊕	++	0		+	
nilin	+	+	+	+			⨯	+	0	++	0	+	⊕		0	+	
meisensäure	+	+	+	+			⨯	+	+	+	+	+	+		⨯	⨯	
yridin	++	++	+	++	++	+		0			0			+		0	
MnO_4	⊖	?	⊖	0			⨯⨯	⨯	⨯⨯	⨯⨯	⨯	⨯	0	⨯	⨯	?	⨯⨯
gCl_2	⨯							+	+	+	+			++	⊖		⨯⨯
AsO_2	0							+	+	++	⊕	++			0	+	
ormaldehyd	⊕			0				+	+	+			+	++	+		
HCl_3	+			+				+	+	+			0		0		

Ergänzungen zu Tabelle I: an erster Stelle ist das Desinficiens, an zweiter der Zusatz genannt.

Alkohol — ges. Na_2SO_4 +
„ — „ MgSO +
„ — „ $SrBr_2$ ++
„ — „ $SrCl_2$ ++
KJO_4 — KCN ⨯⨯
„ — $(NH_4)_2S$ ⨯⨯
Pikrinsäure — ges. NaBr +
„ — Alkohol +
$KMnO_4$ — Oxalsäure ⨯
„ — $KAsO_2$ ⨯⨯
„ — $(NH_4)_2S$ ⨯⨯
„ — H_2S ⨯⨯

Bezüglich der Technik der synergetischen Versuche sei bemerkt, daß im allgemeinen die verschiedenen Desinfizientien in absteigender Verdünnungsreihe (Verdünnungskoëffizient 2, um deutliche Ausschläge zu bekommen) allein für sich und in Parallelreihen mit verschiedenen Zusätzen geprüft wurden. Die Zusätze waren, sofern sie an und für sich antiseptisch wirkten, so bemessen, daß meist die Hälfte oder ein Drittel der wirksamen Grenzdosis zur Verwendung kam, eine Menge, die für sich entweder gar nicht oder nur schwach abtötend wirkte. Eine genaue Einstellung der Zusätze auf diesen Wert ist ziemlich schwer zu erreichen, da trotz eingehendster Einhaltung konstanter Versuchsbedingungen die Empfindlichkeit desselben Teststammes (es wurde durchgehends derselbe Typhusstamm benutzt) aus oft nicht nachweisbaren Gründen recht beträchtliche Variationen aufweist, wie wohl jedem, der Desinfektionsversuche anstellt, zu seinem Leidwesen bekannt sein dürfte. Die in den folgenden Tab. II—XVI wiedergegebenen Versuche weisen trotz dieser Schwierigkeiten eine im großen und ganzen recht befriedigende Regelmäßigkeit der Resultate auf, die zur Feststellung gewisser Gesetzmäßigkeiten hinreicht. Bevor wir dies tun, wollen wir ganz kurz die Resultate der Einzelversuche zusammenfassen und event. nötige Erläuterungen hinzufügen.

Tab. II. Beim Alkohol wirken fördernd NaCl, K_2HPO_4, NaBr, KOH, Natriumglyzerophosphat, hemmend wirkt Traubenzucker. Hier wie in Tab. III ist der $CaCl_2$-Zusatz zu hoch gegriffen, weil er für sich schon abtötet.

Tab. III. Beim Aceton wirken fördernd NaCl, K_2HPO_4, NaBr, Natriumglyzerophosphat, Aether (wirkt allein etwas hemmend) und Chinin.

Tab. IV. Beim Pyridin allein ist hier mit 0,4 ccm 2,5-proz. Lösung (= 1 Proz) Abtötung nicht erreicht, nach anderen Versuchen liegt die Grenzkonzentration bei 2 Proz. Förderung bewirkten NaCl, $CaCl_2$, NaFl, NaBr, LiBr (allein etwas hemmend), Natriumglyzerophosphat, Chinin-HCl.

Tab. V. Beim Chloralhydrat erwiesen sich als fördernd NaCl, $CaCl_2$, NaFl, NaBr, LiBr (etwas hemmend?), Natriumglyzerophosphat, ChininHCl, Alkohol, Aether (allein etwas hemmend). Der K_2HSO_4-Zusatz hier zu hoch gegriffen.

Tab. VI. Beim Phenol förderten NaCl, $CaCl_2$, NaFl (allein wirksam), LiBr, Natriumglyzerophosphat, Chinin-HCl, Alkohol. Aether unregelmäßig.

Tab. VII. Beim $KAsO_2$ ist mit 0,40 ccm ($^1/_{32}$ ges. Lösung) erst der Anfang der Wirksamkeit erreicht, die wirksame Grenzdosis liegt nach anderen Versuchen ungefähr bei 0,8 ccm. Fördernd wirkten hier NaCl, K_2HPO_4, Alkohol, Aceton, Aether, Phenol (allein etwas hemmend), KOH (dto.), Natriumsalizylat.

Tab. VIII. Beim o-Kresol sind wir mit 0,40 ccm fast bei der wirksamen Grenzdosis. Fördernd wirkten hier NaCl, K_2HSO_4, NaBr, LiBr, Chinin-HCl, Harnstoff, Natriumsalizylat. Zweifelhaft ist die Wirkung von Alkohol, Aceton.

Tab. IX. Bei der Ameisensäure wirkten fördernd NaCl, $CaCl_2$, LiBr, Harnstoff, Alkohol, Aether, Phenol, hemmend dagegen KOH, K_2HPO_4 (hier wird die recht beträchtliche Eigenwirkung durch die

HCO_2H nach Maßgabe der Konzentration der letzteren aufgehoben, also gegenseitige Hemmung), Traubenzucker. Beim Chinin, das hier an und für sich abtötend wirkt, ist ebenfalls wohl gegenseitige Hemmung anzunehmen, oben scheint die HCO_2H-Wirkung, unten die Chininwirkung Oberhand zu haben, bei 0,10 HCO_2H ist der Neutralpunkt.

Tab. X. Beim Natriumsalizylat fördert NaCl, K_4HPO_2 (allein wirksam), $CaCl_2$, Aethylalkohol, Aceton (allein hemmend), Aether, Phenol, hemmend wirkt Traubenzucker.

Tab. XI. Bei 0,40 ccm 25-proz. Natriumglykocholatlösung (= 10 Proz.) ist kaum erst eine Spur von Hemmung zu sehen, desto auffallender sind die Abtötungsresultate bei NaCl, NaFl, NaBr, LiBr, Natriumglyzerophosphat, Alkohol, Aether. Chinin, das hier allein abtötet, wird vom gallensauren Salz entgiftet (Fällung?).

Tabelle II.

Jedes Röhrchen enthält die unten angegebenen Mengen von Aethylalkohol sowie die betr. Zusätze, außerdem 0,1 ccm einer Aufschwemmung eines 15-stündigen Schrägagar von B. typhi in 100 ccm 0,5-proz. NaCl-Lösung und wird mit 0,5-proz. NaCl-Lösung auf 1 ccm Gesamtvolumen gebracht. Nach 6-stündigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur wird nach gründlichem Durchmischen aus jedem Röhrchen eine große Oese Material in 10 ccm Bouillon gebracht, die in den 37°-Brutschrank kommt. Die Feststellung des Wachstums erfolgt nach 14- und 24-stündiger Bebrütung bei 37°. Nach weiteren 48 Stunden waren die Resultate unverändert geblieben. + Wachstum, — steril, . unverändert.

Aethylalkohol	Zusatz 0,5 ccm																	
	0 (Kontr.)		ges. w. NaCl-Lösg.		ges. w. K_2HPO_4-Lösung		ges. w. NaBr-Lösg.		ges. w. $CaCl_2$-Lösg.		$^1/_{25}$-n KOH		50-proz. Natriumglyzerophosphat-Lösung		ges. w. Traubenzucker-Lösung		ges. Chinin-HCl-Lösung	
0,40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
0,20	+	.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	.	—	+
0,10	+	.	—	+	—	+	—	—	—	—	—	+	—	+	+	.	+	.
0,05	+	.	+	.	+	.	—	—	—	—	+	.	—	+	+	.	+	.
0 (Kontr.)	+	.	+	.	+	.	+	.	—	—	+	.	+	.	+	.	—	+

Tabelle III.

Versuchsanordnung wie in Tabelle II, nur mit Aceton. Einwirkungsdauer 3 Stunden.

Aceton	Zusatz 0,5 ccm															
	0 (Kontr.)		ges. w. NaCl-Lösg.		ges. w. K_2HPO_4-Lösung		ges. w. NaBr-Lösung		50-proz. Natriumglyzerophosphat-Lösung		ges. w. CaCl-Lösung		ges. Lösg. Aether in 0,5-proz. NaCl-Lösung		ges. Chinin-HCl-Lösung	
0,40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,20	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,10	—	+	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
0,05	—	+	—	+	—	—	+	.	—	+	—	—	—	—	—	—
0 (Kontr.)	+	.	+	.	+	.	+	.	+	.	—	—	—	+	+	.

Erste Ablesung der Resultate nach 17 Stunden, zweite nach 34 Stunden bei 37°.

Tabelle IV.

Versuchsanordnung wie in Tabelle II, nur mit Pyridin. Einwirkungsdauer 3 Stunden bei Zimmertemperatur, Aussaat einer großen Oese auf Schrägagar. Feststellung des Wachstums nach 15 sowie nach 36 Stunden bei 37°. +++ dichtes, ++ mäßiges (2000—10 000 Kolonieen), + bescheidenes (200—1000 Kolonieen) Wachstum, — steril, . unverändert, K. Kolonieen.

Pyridin 25-proz. Lösung	Zusatz																					
	0 (Kontr.)		0,4 ccm ges. w. NaCl-Lösung		0,4 ccm ges. w. K_2HPO_4-Lösung		0,1 ccm ges. w. $CaCl_2$-Lösung		0,5 ccm ges. w. NaFl-Lösung		0,4 ccm ges. w. NaBr-Lösung		0,5 ccm ges. w. Chinin-HCl-Lösung		0,1 ccm ges. w. LiBr-Lösung		0,5 ccm 50-proz. Lösung Natrium-glyzero-phosphat		0,5 ccm 20-proz. Lösung Aethyl-alkohol		0,5 ccm ges. Lösung Aether in 0,5-proz. NaCl	
0,40	++	.	—	5 K.	+	++	—	4 K.	—	—	—	—	—	4 K.	—	—	—	—	+	+++	++	+++
0,20	++	.	1 K.	30 K.	++	+++	5 K.	++	—	—	—	—	++	+++	—	—	—	20 K.	++	+++	++	+++
0,10	++	.	50 K.	+	++	+++	—	30 K.	—	—	—	—	+++	.	—	—	—	++	++	.	+++	.
0,05	+++	.	+++	.	+++	.	1 K.	20 K.	4 K.	60 K.	—	6 K.	++	.	4 K.	7 K.	++	+++	+++	.	+++	.
0 (Kontr.)	+++	.	++	+++	+++	.	+++	.	++	.	+++	.	++	.	+	+++	+	++	++	+++	+++	.

Tabelle V.

Versuchsanordnung wie in Tab. IV, nur mit Chloralhydrat. Aussaat nach 3 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung des Wachstums wie oben.

Chloral-hydrat 10-proz. Lösung	Zusatz																					
	0 (Kontr.)		0,4 ccm ges. w. NaCl-Lösung		0,4 ccm ges. w. K_2HPO_4-Lösung		0,4 ccm ges. w. $CaCl_2$-Lösung		0,5 ccm ges. w. NaFl-Lösung		0,4 ccm ges. w. NaBr-Lösung		0,2 ccm ges. w. Chinin-HCl-Lösung		0,1 ccm ges. w. LiBr-Lösung		0,5 ccm 50-proz. Lösung Natrium-glyzero-phosphat		0,5 ccm 20-proz. Lösung Aethyl-alkohol		0,5 ccm ges. Lösung Aether in 0,5-proz. NaCl-Lösung	
0,40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,20	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,10	+++	.	+	++	—	—	+++	.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1 K.	—	1 K.	8 K.	13 K.
0,05	+++	.	+++	.	—	—	+++	.	—	1 K.	—	—	—	—	—	—	—	1 K.	+++	.	3 K.	6 K.
0 (Kontr.)	+++	.	+++	.	1 K.	.	+++	.	+	++	+++	.	+++	.	++	.	++	.	+++	.	+	++

Tabelle VI.

Versuchsanordnung wie in Tab. IV. Feststellung des Wachstums nach 14 bis 40 Stunden bei 37°

Phenol 2,5-proz. Lösung	Zusatz																	
	0 (Kontr.)		0,7 ccm ges. w. NaCl-Lösung		0,1 ccm ges. w. $CaCl_2$-Lösung		0,7 ccm ges. w. NaFl-Lösung		0,3 ccm ges. w. Chinin-HCl-Lösung		0,1 ccm ges. w. LiBr-Lösung		0,7 ccm 50-proz. Lösung Natrium-glyzerophosphat		0,5 ccm 20-proz. Lösung Aethyl-Alkohol		0,5 ccm ges. Lösung Aether in 0,5 Proz. NaCl-Lösung	
0,20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,10	+++	.	—	—	3 K.	5 K.	—	—	—	—	—	—	—	—	20 K.	+	++	.
0,05	+++	.	—	—	+++	.	—	—	—	1 K.	—	—	—	—	+++	.	+++	.
0,025	+++	.	+	++	+++	.	—	7 K.	+	++	20 K.	+	10 K.	24 K.	+++	.	—	—
0 (Kontr.)	+++	.	+++	.	+++	.	12 K.	+	+++	.	++	+++	+++	.	+++	.	+++	.

Tabelle VII.

Versuchsanordnung wie in Tab. IV. Einwirkungsdauer 4 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 14 und 48 Stunden bei 37° C.

Ges. w. $KAsO_2$-Lösung $^1/_{32}$	Zusatz																	
	0 (Kontr.)		0,5 ccm ges. w. NaCl-Lösung		0,1 ccm ges. w. K_2HPO_4-Lösung $^1/_2$		0,5 ccm 20-proz. Lösung Aethyl-Alkohol		0,5 ccm 20-proz. Lösung Aceton		0,5 ccm ges. Lösung Aether in 0,5-proz. NaCl-Lösung		0,5 ccm 0,5-proz. Lösung Phenol		0,1 ccm $^1/_{25}$-n.-Lösung KOH		0,2 ccm ges. w. Natr.-salic.-Lösung $^1/_8$	
0,40	100 K.	++	—	+	—	2 K.	—	2 K.	—	—	—	1 K.	—	—	30 K.	50 K.	—	2 K.
0,20	++	+++	+	++	—	10 K.	—	31 K.	—	11 K.	+	++	—	—	++	.	—	—
0,10	+++	.	++	+++	++	.	+	++	11 K.	100 K.	+	++	—	—	++	.	—	—
0,05	+++	.	+++	.	+++	.	++	+++	++	+++	+++	.	—	—	++	+++	++	.
0 (Kontr.)	+++	.	+++	.	+++	.	+++	.	++	+++	+++	.	+	+++	+	++	++	.

Tabelle VIII.

Versuchsanordnung wie in Tabelle IV. Feststellung der Resultate nach 14 und 48 Stunden bei 37° C.

O-Kresol 1-proz. Lösung	Zusatz																							
	0 (Kontr.)		0,5 ccm ges. w. NaCl-Lösung		0,5 ccm ges. w. K_2HPO_4-Lösung $^1/_{10}$		0,1 ccm ges. w. $CaCl_2$-Lösung		0,2 ccm ges. w. NaBr-Lösung $^1/_4$		0,2 ccm ges. w. Chinin-HCl-Lösung		0,1 ccm ges. w. LiBr-Lösung		0,2 ccm ges. w. Harnstoff-Lösung		0,5 ccm 20-proz. Lösung Aethyl-alkohol		0,5 ccm 2-proz. Lösung Aceton		0,5 ccm ges. Lös. Aether in 0,5-proz. NaCl-Lösung		0,2 ccm Natr. salic. ges. Lösung $^1/_8$	
0,40	1 K.	5 K.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,20	+++	.	—	—	70 K.	100 K.	++	.	34 K.	40 K.	—	—	—	—	—	5 K.	+++	.	+	++	+++	.	—	—
0,10	+++	.	+	++	53 K.	80 K.	++	+++	+	++	—	—	—	1 K.	++	+++	+++	.	++	+++	+++	.	++	+++
0 (Kontr.)	+++	.	+++	.	++	+++	+++	.	++	+++	+++	.	++	+++	+++	.	+++	.	++	+++	+++	.	+++	.

Tabelle IX.

Versuchsanordnung wie in Tabelle IV, nur sind Verdünnungen und Bakterienaufschwemmung mit dest. H_2O hergestellt, ebenso die Proben mit H_2O auf 1 ccm aufgefüllt. Feststellung der Resultate nach 14 und 44 Stunden bei 37°. Versuchsdauer $4^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur.

Ameisensäure $^1/_{1000}$	Zusatz																							
	0 (Kontr.)		0,5 ccm ges. w. NaCl-Lösung		0,5 ccm ges. w. K_2HPO_4 Lösung $^1/_{10}$		0,1 ccm ges. w. $CaCl_2$-Lösung		0,5 ccm ges. w. Trauben-zucker-Lösung		0,5 ccm ges. w. Chinin-HCl-Lösung $^1/_5$		0,5 ccm ges. w. LiBr-Lösung $^1/_{10}$		0,2 ccm ges. w. Harn-stoff-Lösung		0,5 ccm 20-proz. Lösung Aethyl-alkohol		0,5 ccm ges. w. Lösung Aether		0,5 ccm 0,5-proz. Lösung Phenol		0,1 ccm $^1/_{40}$ n.-Lösung KOH	
0,40	—	—	—	—	++	.	—	—	—	1 K.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1 K.
0,20	—	—	—	—	+	++	—	—	50 K.	+	—	2 K.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100 K.	150 K.
0,10	6 K.	8 K.	—	—	50 K.	+	—	—	+	++	++	.	—	—	—	—	—	—	—	4 K.	—	—	++	+++
0,05	+	++	—	—	100 K.	+	—	—	++	+++	—	2 K.	—	—	—	—	—	—	—	18 K.	—	—	++	+++
0 (Kontr.)	+++	.	++	+++	60 K.	100 K.	++	+++	+++	.	—	—	+++	.	+++	.	++	+++	+++	.	+++	.	++	+++

Tabelle X.

Versuchsanordnung wie in Tab. IV. Feststellung der Resultate nach 14 und 34 Stunden bei 37° C.

Ges. wäss. Natr.-salic.-Lösung 1/8	Zusatz: 0 (Kontr.)	0,5 ccm ges. w. NaCl-Lösung	0,1 ccm ges. w. K_2HPO_4 Lösung	0,1 ccm ges. w. $CaCl_2$ Lösung	0,5 ccm ges. w. Traubenzuckerlösung	0,2 ccm ges. w. Chinin-HCl-Lösung	0,5 ccm 20-proz. Lösung Aethylalkohol	0,5 ccm 2-proz. Lösung Aceton	0,5 ccm ges. Lösung Aether in 0,5-proz. NaCl-Lösung	0,4 ccm 0,625-proz. Lösung Phenol
0,40	— —	— —	— —	— —	+++ .	— —	— —	— —	1 K. 1 K.	— —
0,20	+++ .	— —	— —	4 K. 5 K.	+++ .	++ .	60 K. +	— —	— —	— —
0,10	+++ .	++ .	— —	++ +++	+++ .	+++ .	+++ ·	— 7 K.	+++ .	— —
0,05	+++ .	++ .	+ .	++ +++	+++ .	+++ .	+++ .	— +	+++ .	50 K. 100 K.
0 (Kontr.)	+++ .	+++ .	50 K. 100 K.	++ +++	+++ .	+++ .	+++ .	— +	+++ .	+++ .

Tabelle XI.

Versuchsanordnung wie in Tab. IV. Feststellung der Resultate nach 15 bis 24 Stunden bei 37° C.

Natrium-Glykocholat 25-proz. Lösung	Zusatz: 0 (Kontr.)	0,4 ccm ges. w. NaCl-Lösung	0,3 ccm ges. w. K_2HPO_4-Lösung	0,5 ccm ges. w. NaFl-Lösung	0,4 ccm ges. w. NaBr-Lösung	0,5 ccm ges. w. Chinin-HCl-Lösung	0,1 ccm ges. w. LiBr-Lösung	0,5 ccm 50-proz. Lösung Natriumglyzerophosphat	0,5 ccm 20-proz. Lösung Aethylalkohol	0,5 ccm ges. Lösung Aether in 0,5-proz. NaCl-Lösung
0,40	++ .	— —	+ ++	— —	— —	++ +++	— —	— —	— —	6 K. ++
0,20	+++ .	— —	+ ++	20 K. .	— —	+++ .	— —	— —	20 K. ++	+++ .
0,10	+++ .	— —	++ +++	30 K. +	— —	+++ .	— —	— —	+++ .	+++ .
0 (Kontr.)	+++ .	+++ .	+++ .	++ +++	+++ .	— —	+++ .	+++ .	+++ .	+++ .

Bemerkung: In den Röhrchen, wo Chinin-HCl mit 0,20 resp. 0,10 Natriumglykocholat zusammenkam, enstand ein weißer Niederschlag.

Tabelle XII.

Versuchsanordnung wie in Tabelle IV. Aussaat nach 4 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung nach 12 und 48 Stunden bei 37° C.

5-proz. Lösung Natriumoleat	Zusatz																							
	0 (Kontr.)		0,5 ccm ges. w. NaCl-Lösung		0,5 ccm ges. w. K_2HPO_4-Lösung $^1/_{10}$		0,2 ccm ges. w. NaBr-Lösung $^1/_4$		0,2 ccm ges. w. Chinin-HCl-Lösung		0,1 ccm ges. w. LiBr-Lösung		0,2 ccm ges. w. Harnstoff-Lösung		0,5 ccm 20-proz. Lösung Aethylalkohol		0,5 ccm 2-proz. Lösung Aceton		0,5 ccm ges. Lös. Aether in 0,5 proz. NaCl-Lösung		0,1 ccm $^1/_{25}$ n. L. KOH		0,2 ccm ges. w. Natr. salic. Lösung $^1/_8$	
0,40	++	+++	—	—	100 K.	+	—	8 K.	++	+++	—	1 K.	—	—	++	+++	—	—	+	++	20 K.	.	30 K.	100 K.
0,20	++	+++	1 K.	2 K.	+	++	+	.	+++	.	10 K.	24 K.	—	—	++	+++	—	3 K.	7 K.	12 K.	20 K.	30 K.	++	.
0,10	+++	.	20 K.	100 K.	++	+++	++	+++	+++	.	30 K.	+	—	—	+++	.	—	16 K.	+++	.	—	2 K.	++	+++
0 (Kontr.)	+++	.	+++	.	+++	.	+++	.	+++	.	++	+++	++	+++	+++	.	—	++	+++	.	20 K.	+	++	+++

In den Röhrchen, wo die Seife mit NaCl, NaBr, LiBr zusammenkam, wurde sie zum Teil ausgesalzen.

Tabelle XIII.

Versuchsanordnung wie in Tabelle IV, nur ist die Bakterienaufschwemmung und die Verdünnungen mit dest. H_2O hergestellt. Feststellung der Resultate nach 14 und 48 Stunden bei 37° C.

Anilinwasser	Zusatz																							
	0 (Kontr.)		0,5 ccm ges. w. NaCl-Lösung		0,5 ccm ges. w. K_2HPO_4-Lösung $^1/_{10}$		0,1 ccm ges. w. $CaCl_2$-Lösung		0,5 ccm ges. w. Traubenzuckerlösung		0,2 ccm ges. w. NaBr-Lösung $^1/_4$		0,2 ccm ges. w. Harnstofflösung		0,5 ccm 20-proz. Lösung Aethylalkohol		0,5 ccm 2-proz. Lösuug Aceton		0,5 ccm ges. w. Aetherlösung		0,5 ccm 0,5-proz. Lösung Phenol		0,2 ccm ges. w. Natr.salic.-Lösung $^1/_8$	
0,40	—	—	—	1 K.	—	—	—	—	50 K.	100 K.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,20	+++	.	—	—	—	—	—	—	+++	.	11 K.	14 K.	3 K.	50 K.	+	++	+	++	+	++	—	—	—	—
0,10	+++	.	++	.	1 K.	.	++	+++	+++	.	++	+++	+++	.	—	+	+++	.	+++	.	12 K.	15 K.	+	++
0,05	+++	.	+++	.	50 K.	100 K.	+++	.	+++	.	+++	.	+++	.	+	+++	+++	.	+++	.	20 K.	30 K.	+++	.
0 (Kontr.)	+++	.	+++	.	++	+++	+++	.	+++	.	+++	.	+++	.	++	+++	+	++	+++	.	+++	.	+++	.

Tabelle XIV.

Versuchsanordnung wie in Tabelle XIII. Feststellung der Resultate nach 12 und 60 Stunden bei 37° C.

Formaldehyd		Zusatz: 0 (Kontr.)		0,5 ccm ges. w. NaCl-Lösung		0,5 ccm ges. w. LiBr-Lösung 1/10		0,2 ccm ges. w. Harnstoff-lösung		0,5 ccm. ges. w. Chinin-HCl-Lösung 1/10	
1 Proz.	0,40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,20	—	1 K.	—	—	—	1 K.	—	—	—	—
	0,10	—	30 K.	—	80 K.	—	40 K.	—	—	—	—
1/8 Proz.	0,40	—	++	—	+	—	30 K.	—	—	—	—
	0,20	—	++	+	++	—	100 K.	—	++	—	—
	0,10	++	+++	+	++	—	80 K.	+	+++	—	—
1/64 Proz.	0,40	+++	.	+++	.	—	++	++	+++	—	—
	0,20	+++	.	+++	.	++	.	+++	.	—	—
0 (Kontr.)		+++	.	+++	.	+++	.	+++	.	+	++

Formaldehyd		Zusatz: 0,5 ccm 30-proz. Lösung Aethyl-alkohol		0,5 ccm 2-proz. Lösung Aceton		0,5 ccm 0,5-proz. Lösung Phenol		0,1 ccm 1/40 n. Lös. KOH	
1 Proz.	0,40	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,20	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,10	—	—	—	—	—	9 K.	—	—
1/8 Proz.	0,40	—	35 K.	—	33 K.	—	1 K.	—	18 K.
	0,20	80 K.	++	—	+	—	+	—	++
	0,10	+	++	—	++	15 K.	++	++	+++
1/64 Proz.	0,40	++	+++	10 K.	++	++	+++	++	+++
	0,20	+++	.	20 K.	++	+++	.	+++	.
0 (Kontr.)		+++	.	++	+++	+++	.	+++	.

Tab. XII. Die Seife ist wieder ein Stoff, der selbst in viel höheren Konzentrationen als die hier gebrauchten (2 Proz.) noch unwirksam ist (Anfang der Wirksamkeit erst bei 12 Proz. im Beisein von 12 Proz. Aethyl-Alkohol). Sie wird zu einem Desinficiens unter der Mitwirkung von NaCl, K_2HPO_4, NaBr, LiBr, Harnstoff, Aceton, Aether, Natriumsalizylat. Fraglich ist hier die Wirksamkeit von KOH.

Tab. XIII. Anilin wird gefördert durch NaCl, K_2HPO_4, $CaCl_2$, NaBr, Harnstoff, Phenol, Natriumsalizylat, gehemmt durch Traubenzucker. Die Alkoholwirkung ist unregelmäßig, diejenige von Aceton und Aether zweifelhaft.

Tab. XIV. Bemerkenswert ist die starke Hemmungswirkung des Formaldehyds, die sich in dem verspäteten Auswachsen der nicht abgetöteten Keime kundgibt. Förderung war zu verzeichnen bei Harn-

Tabelle XV.

Versuchsanordnung wie in Tabelle XIII. Das $HgCl_2$ wurde nachträglich nicht entgiftet. Einwirkungsdauer $2^1/_2$ Stunde bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 15 und 56 Stunden bei 37° C.

$HgCl_2$		Zusatz: 0 Kontrolle		0,5 ccm ges. w. NaCl-Lösung		0,5 ccm ges. w. $MgSO_4$-Lösung		0,5 ccm 30-proz. Lösung Aethylalkohol	
Lösung $^1/_{25\,600}$	0,40	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,20	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,10	—	—	—	—	—	—	—	—
Lösung $^1/_{204\,800}$	0,40	—	—	1 K.	1 K.	—	—	—	—
	0,20	—	—	+++	.	9 K.	.	—	—
	0,10	++	+++	+++	.	1 K.	.	—	—
Lösung $^1/_{1\,638\,400}$	0,40	+++	.	+++	.	+++	.	++	.
	0,20	+++	.	+++	.	+++	.	+++	.
	0,10	+++	.	+++	.	+++	.	+++	.
(0 Kontrolle)		+++	.	+++	.	+++	.	+++	.

$HgCl_2$		0,5 ccm 2-proz. Lösung Aceton		0,5 ccm ges. w. Aether-Lösung		0,5 ccm 0,5-proz. Lösung Phenol		0,5 ccm ges. w. Chinin-HCl-Lös. $^1/_{10}$		0,1 ccm $^1/_{40}$ n. Lösung KOH	
Lösung $^1/_{25\,600}$	0,40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Lösung $^1/_{204\,800}$	0,40	—	—	—	—	—	—	—	—	20 K.	30 K.
	0,20	—	—	—	—	—	—	—	—	++	.
	0,10	—	—	1 K.	.	40 K.	.	—	—	+++	.
Lösung $^1/_{1\,638\,400}$	0,40	+	+	80 K.	.	+++	.	—	—	+++	.
	0,20	++	+++	+++	.	+++	.	—	—	+++	.
	0,10	+++	.	+++	.	+++	.	—	—	+++	.
0 (Kontrolle)		+++	.	+++	.	+++	.	+++	.	+++	.

stoff, Chinin-HCl (allein hemmend), Alkohol, Aceton, Phenol, KOH, wirkungslos waren NaCl und LiBr.

Tab. XV. Beim $HgCl_2$ wurde entgegen allgemeinem Brauch die nachträgliche Ausschaltung der Nachwirkung durch $(NH_4)_2S$-Zusatz unterlassen, nachdem in sehr zahlreichen sehr verschiedenartig variierten Versuchsreihen keine regelmäßigen Resultate erzielt werden konnten (auch nicht bei Neutralisation durch Zusatz von $Na_2S_2O_3$). In dem hier vorliegenden Versuch ist trotz dieser Unterlassung ein ganz regelmäßiger Ablauf der einzelnen Reihen erzielt worden zum Beweis dafür, daß trotzdem wohl Entwickelungshemmung auf dem Schrägagar mitgespielt haben mag, vielleicht die absoluten Werte, nicht aber ihre relativen Verhältnisse an Genauigkeit gelitten haben. Sehr hoch ist übrigens bei unserer Versuchsanordnung die Entwickelungshemmung

nicht zu veranschlagen, wie folgende kleine Versuchsreihe zeigt, wo einerseits (A) auf Schrägagar, anderseits in 10 ccm Bouillon (B) je eine große Oese der betr. Proben ausgesät wurde.

$HgCl_2$ $^1/_{25600}$.

Reihe	0,80	0,40	0,20	0,10	0,05
A	—	—	30 K.	5 K.	+++
B	—	—	+++	+++	+++

Natürlich liefern auch die wenigen von der A-Reihe als überlebend angezeigten Keime in der B-Reihe volles Wachstum in der Bouillon, so daß also die Schrägagarröhrchen-Methode hier die feineren Ausschläge gibt.

Förderung gaben beim $HgCl_2$ Alkohol, Aceton, Phenol, Aether, Chinin-HCl, es hemmten NaCl, KOH.

Tab. XVI. Beim $KMnO_4$ förderten NaBr, LiBr, zweifelhaft war der Einfluß von NaCl, $CaCl_2$, es hemmten K_2HPO_4, KOH, Traubenzucker, Chinin-HCl, Alkohol, Aceton (hier hemmt $KMnO_4$ auch die Eigenwirkung des Acetons), Aether, Phenol, Natriumsalizylat.

Tabelle XVI.

Versuchsanordnung wie in Tabelle XIII. Aussaat nach 4 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 24 und 48 Stunden bei 37° C.

$KMnO_4$ $^1/_{32000}$	Zusatz													
	0 (Kontrolle)		0,5 ccm ges. w. NaCl-Lös.		0,5 ccm ges. w. K_2HPO_4 Lösung $^1/_4$		0,1 ccm ges. w. $CaCl_2$-Lösung		0,2 ccm ges. w. NaBr-Lösung $^1/_4$		0,5 ccm ges. w. LiBr Lösung $^1/_{10}$		0,5 ccm ges. w. Traubenzuckerlös.	
0,40	—	—	—	—	110 K.	.	—	—	—	—	—	—	+++	.
0,20	50 K.	.	+++	.	50 K.	80 K.	30 K.	100 K.	—	—	—	—	+++	.
0,10	++	+++	+++	.	50 K.	80 K.	++	+++	—	—	20 K.	50 K.	+++	.
0,05	+++	.	+++	.	40 K.	100 K.	+++	.	—	—	++	.	+++	.
(Kontr.)	+++	.	+++	.	100 K.	+	+++	.	+	.	+++	.	+++	.

$KMnO_4$ $^1/_{32000}$	Zusatz													
	0,5 ccm ges. w. Chinin-HCl-Lös.		0,2 ccm ges. w. Harnstoff-Lös.		0,5 ccm 30-proz. Lösung Aethylalk.		0,5 ccm 2-proz. Lösung Aceton		0,5 ccm ges. w. Aether-Lösung		0,5 ccm 0,5-proz. Phenollösung		0,1 ccm $^1/_{40}$ n. Lösung KOH		0,2 ccm ges. w. Natr. salic. Lösung $^1/_8$	
0,40	+	++	—	—	+++	.	+++	.	++	.	3 K.	.	20 K.	60 K.	+++	.
0,20	++	.	—	—	+++	.	++	.	+++	.	++	.	+++	.	++	.
0,10	10 K.	.	+++	.	+++	.	+	.	+++	.	+	.	+++	.	++	+++
0,05	3 K.	.	+++	.	+++	.	100 K.	+	+++	.	+	++	+++	.	++	+++
(Kontr.)	++	.	+++	.	+++	.	100 K.	+	+++	.	+++	.	+++	.	++	+++

Wenn wir auf Grund der vorliegenden Versuchsdaten uns fragen, welche Gesetzmäßigkeiten darin zutage treten, so dürfte folgendes daraus zu entnehmen sein:

1) Durch Zusatz von Neutralsalzen wird die Wirksamkeit einer Reihe von Antisepticis gesteigert resp. die Wirksamkeit mancher Stoffe überhaupt erst zum Vorschein gebracht. Das gemeinsame Kennzeichen dieser Stoffe (es können auch Säuren oder Basen sein) wäre wohl in ihrer Lipoidlöslichkeit zu suchen.

2) Je stärker wirksam ein Neutralsalz an sich ist, desto größer pflegt auch seine fördernde Wirkung zu sein.

3) Während Natriumglyzerophosphat und Traubenzucker sich betreffs der Hämolysesteigerung analog den Neutralsalzen verhalten, ist das bei der Desinfektion nur beim Natriumglyzerophosphat der Fall, während Traubenzucker in einigen untersuchten Kombinationen sich als hemmend erwies, vielleicht dank der Verbesserung der Ernährungsverhältnisse, die, wie bekannt, für den Ausgang von Desinfektionswirkungen von großer Bedeutung sind.

4) Hemmung durch Neutralsalze wurde beobachtet beim Harnstoff, $HgCl_2$, $KMnO_4$ (ebenso bei der Hämolyse).

5) Die lipoidlöslichen Stoffe: Alkohol, Aceton, Aether, Phenol, o-Kresol, Natriumsalizylat, Natriumoleat, Harnstoff, Chloralhydrat, Chinin-HCl, Anilin, Pyridin, Ameisensäure, $HgCl_2$ verstärken meist ihre Wirkungen wenn sie untereinander kombiniert werden.

6) Aehnlich verhalten sich Alkalien und alkalische Salze, nur wird $HgCl_2$ und Ameisensäure von ihnen gehemmt.

Wenn wir uns weiter die Frage nach dem Mechanismus dieser Förderungs- sowie Hemmungserscheinungen vorlegen, so muß die Beantwortung wohl für jeden Fall oder jede Gruppe von Fällen insbesondere versucht werden und gibt es oft auch für den Einzelfall verschiedene Erklärungsmöglichkeiten.

Für die Neutralsalzförderung der Phenolwirkung wurde eine Reihe von Deutungen unternommen. Ihr Entdecker Scheurlen glaubte in einer wässerigen Lösung von Phenol neben Phenolmolekülen auch weniger wirksame Moleküle von Phenolhydrat annehmen zu müssen; durch Zusatz von Neutralsalzen würde dann den Hydratmolekülen Wasser entzogen und sie dadurch in die wirksameren Phenolmoleküle umgewandelt. Von Scheurlen und Spiro stammt dann die jetzt wohl allgemein akzeptierte und neuerdings von Reichel mit viel Scharfsinn und exakten Versuchsergebnissen begründete Anschauung, daß durch den Neutralsalzzusatz die Verteilungsverhältnisse des Phenols zu ungunsten des Milieus und zugunsten der bakteriellen Phase verändert werden, daß es sich hier also um Aussalzungserscheinungen handelt. Weyland und Römer glauben hingegen in der Erhöhung des Eiweißfällungsvermögens des Phenols durch die Neutralsalze die Ursache der Steigerung der Wirksamkeit zu erblicken, und der letzte Autor nimmt dabei direkt eine Schädigung der Sporenhülle durch das Salz an.

Unserer Ansicht nach ist die ingeniöse Hypothese von Scheurlen und Spiro sowie Spiro und Bruns zweifellos richtig und wird sogar durch unsere Beobachtung noch auf eine Reihe weiterer Stoffe ausgedehnt, deren Aufnahmemechanismus demjenigen des Phenols analog sein dürfte. Doch glauben wir, daß neben dieser Theorie, die vor allem die Aenderung der physikalisch-chemischen Beschaffenheit des Milieu durch den Salzzusatz berücksichtigt, auch diejenige recht behalten kann, die einen Einfluß der Salze auf die abzutötende Bakterienzelle postuliert, und daß beide Theorien einander durchaus nicht widersprechen, indem die Salze nach beiden Richtungen hin die Desinfektionswirkung steigern können. Wir haben ja oben gesehen, daß die konzentrierteren Salzlösungen — speziell, wenn man außer den Milzbrandsporen und Staphylokokken auch andere empfindlichere Bakterienarten zur Untersuchung

heranzieht — für die Bakterien durchaus nicht indifferent sind, sondern zum Teil ganz respektable Antiseptika darstellen. Und selbst für Milzbrandsporen hat ja Römer nachgewiesen, daß Vorbehandlung mit 5,9-proz. NaCl-Lösung dieselben für die nachträgliche Phenolwirkung empfindlicher macht, und wir haben gefunden, daß mit starken NaBr- sowie LiBr-Lösungen selbst bei diesem Material recht beträchtliche Abtötungsvorgänge zu erzielen sind. Welcher Art diese Einwirkung der Salze auf die Bakterien ist, muß vorläufig unentschieden gelassen werden - osmotische Druckvorgänge allein dürften es wohl nicht sein, sondern man wird wahrscheinlich auch mit einem Eintritt der Salze in die Bakterien zu rechnen haben, wie man auch bei den Blutkörperchen durch manche Beobachtungen darauf hingewiesen wird (s. Hämolysearbeit). Sodann möchten wir noch auf eine seinerzeit von Weyland ausgesprochene und von C. Römer befürwortete Hypothese hinweisen, wonach die Steigerung der Phenolwirkung durch Salzzusatz auf einer Steigerung seines Eiweißfällungsvermögens beruht. Wenn nun auch nach den Ausführungen von Reichel eine (wenigstens irreversible) Ausfällung von Eiweiß durch Phenol kaum anzunehmen ist, so genügt doch schon eine Entmischung oder überhaupt Zustandsänderung der Plasmakolloide (die äußerlich als Fällung imponiert), um die Lebensfähigkeit der Bakterien tiefgreifend zu stören. Wenn Spiro und Bruns dieser Anschauung die Beobachtung entgegenstellen, daß durch Alkohol (also auch ein Eiweißfällungsmittel) die Desinfektionswirkung des Phenols herabgesetzt wird, müssen wir auf Grund unserer Versuche mit Bac. typhi das Gegenteil behaupten (s. Tab. VI). Doch wenn dem auch so wäre, ließe sich die Tatsache darauf zurückführen, daß die Verschiebung des Verteilungsgleichgewichts zuungunsten der Bakterien in diesem Fall der Alkoholschädigung überlegen ist. Die Beobachtung von Krönig und Paul, daß eine Phenollösung in absolutem Alkohol ganz unwirksam ist, findet eine Erklärung in der oft festgestellten Tatsache, daß auch reiner, absoluter Alkohol (ganz trockene) Bakterien unbehelligt läßt, die von 70-proz. Alkohol energisch abgetötet werden, weil er eben in sie durch Koagulation der Außenschicht nicht eindringen kann. Es können also, um zusammenzufassen, einerseits Wasserentziehung oder sonstige Zustandsänderungen der Plasmakolloide die Bakterienzelle schädigen und der Desinfektionswirkung zugänglich machen. Anderseits kann im Sinne der Spiro-Brunsschen Theorie eine Verschiebung des Verteilungsgleichgewichts durch den Salzzusatz eine größere Menge des Desinficiens in die Bakterien hineingelangen lassen. Außerdem aber kommt noch eine Möglichkeit in Betracht, auf die Bechhold hingewiesen hat, nämlich eine Aenderung der Permeabilitätsverhältnisse der Plasmahaut (nicht Bakterienmembran!) durch den Salzzusatz, die wieder eine erhöhte Aufnahme des Desinficiens zur Folge haben kann. Wie wir sehen, ist das Problem recht kompliziert, und es können viele Teilfaktoren an dem Endergebnis zusammenwirken. Dafür, daß die oben erörterte Kolloidschädigung daran teilnimmt, scheint uns vor allem die aus den Tabellen ersichtliche und oben (unter 2) hervorgehobene Tatsache zu sprechen, daß die Förderung durch Neutralsalze mit dem Grad ihrer Eigenwirkung meist Hand in Hand geht.

Die (übrigens ziemlich beschränkte) Hemmungswirkung der Neutralsalze gegenüber der $HgCl_2$-Desinfektion wird wohl am besten mit Spiro und Bruns sowie Krönig und Paul auf Hemmung der Dissoziation

des $HgCl_2$ zurückgeführt. Die Hemmung des $KMnO_4$ durch Neutralsalze ist vielleicht als Hemmung der Säurewirkung der $HMnO_4$ zu deuten (wie bei der Hämolyse). Die Hemmung der Harnstoffwirkung durch NaCl- oder $CaCl_2$-Zusatz beruht vielleicht darauf, daß diese Salze eine der Harnstoffwirkung entgegengesetzte Zustandsänderung der Plasmakolloide bewirken (s. Bechhold und Ziegler).

Wenn wir weiter die gegenseitige Förderung vieler lipoidlöslicher Desinfizientien auf ihren Mechanismus hin analysieren, so bietet sich uns wieder eine Reihe von Erklärungsmöglichkeiten, ebenso wie bei der Salzförderung. Zunächst können also die Zusätze hier die Löslichkeit des Desinficiens und damit sein Verteilungsgleichgewicht beeinflussen, vorausgesetzt, daß seine Aufnahme durch Lösung (Absorption) erfolgt. Wie den diesbezüglichen Angaben von Rothermundt und Führer zu entnehmen ist, kommen hier sowohl Löslichkeitserhöhungen als auch Erniedrigungen vor; beide Vorgänge nicht bedeutungslos für die Aufnahme des Desinficiens. Wird die Löslichkeit im Milieu erhöht, so wird die Aufnahme herabgesetzt, doch sind auch Fälle denkbar, wo schwer lösliche Stoffe dadurch erst überhaupt zur Wirkung gelangen können. Wird die Löslichkeit herabgesetzt, so ändert sich, wie im Falle der Neutralsalze, das Verteilungsgleichgewicht zugunsten der lipoiden eventuell Bakterienphase und Steigerung der Wirksamkeit ist dann die Folge. Es ist interessant zu sehen, daß für einige oben mitgeteilte Steigerungskombinationen Führer Löslichkeitsherabsetzung und Aenderungen der Kapillaraktivität hat feststellen können (Alkohol-Phenol, Alkohol-Chloralhydrat, Aether-Chloralhydrat). Zweitens können verschiedene Stoffe im Sinne der Beobachtungen von Schumacher, Zott, Bechhold und Ziegler, Traube, Billard, Katzenellenbogen die Permeabilitätsverhältnisse der Plasmahaut für andere Stoffe erhöhen (oder erniedrigen) und dadurch ihre Aufnahme steigern (oder herabsetzen). So sollen Alkohol, Aether, Aceton, Alkalien in mäßigen Verdünnungen die Permeabilität von Membranen erhöhen (Bechhold), ebenso Harnstoff (Bechhold und Ziegler). Stoffe, die wir oft in unserer Liste als steigernde Zusätze finden. Endlich ist daran zu denken, daß beide Stoffe in der Bakterienzelle selbst Wirkungen entfalten können, die sich zueinander addieren und daß auf diese Weise selbst zwei Stoffe, die in den betr. Konzentrationen jeder für sich unwirksam sind, zusammen Abtötung ergeben können. Die Möglichkeiten eines so aufgefaßten Zusammenwirkens sind natürlich sehr zahlreich, wenn auch eine genaue Erkenntnis uns noch auf diesem Gebiet verschlossen ist. Welcher von den hier besprochenen drei Mechanismen im Einzelfall zutrifft — es werden oft auch Kombinationen von zweien oder allen sich finden lassen — bleibt einer genaueren Analyse vorbehalten.

Bezüglich der von Bürgi aufgestellten Hypothese, wonach Pharmaka, die denselben Angriffspunkt an der zu beeinflussenden Zelle haben, ihre Wirkung addieren, diejenigen, die verschiedene Angriffspunkte haben, ihre Wirkungen potenzieren sollen, erlaubt uns zwar unser Versuchsmaterial keine entscheidenden Schlüsse, doch haben wir im allgemeinen keine Potenzierung gefunden, wo man sie hätte erwarten sollen, wo sie aber vorzuliegen schien (Salze + Seife, Salze + Natriumglykocholat), ist wohl am ehesten an Aussalzungsvorgänge zu denken. Es sei übrigens bemerkt, daß in einer neueren Arbeit Bürgi betreffs der Desinfektionsmittel die Potenzierung auf eine Reaktionsbeschleunigung beschränkt.

Die hier dargestellten synergetischen Versuche waren nicht ausgedehnt genug, auch sind sie noch nicht an einer genügenden Anzahl von Species durchgeführt worden, als daß sie in dieser Form bereits praktische Bedeutsamkeit für sich beanspruchen könnten. Doch scheint uns daraus hervorzugehen, daß die Suche nach zweckmäßigen Kombinationen von Antisepticis eventuell das Bestreben, ihre Wirksamkeit durch indifferente Zusätze zu steigern, wohl berechtigt sind und wäre vielleicht manche der besprochenen Kombinationen einer eingehenden praktischen Prüfung wert.

Ueber die Bindungsweise der Antiseptika an Bakterien.

Die nicht sehr zahlreichen quantitativen Untersuchungen über den Mechanismus der Desinfektionswirkung beschäftigten sich zumeist mit der Feststellung von Reaktionskurven (Ikeda, Madsen und Nyman, Reichenbach, Chick, Reichel), nur bei Reichel sowie Küster und seinen Schülern finden sich Versuche über die Aufnahme der Antiseptika (Phenol) durch die Bakterien. Die sehr geringe Menge an Substanz, die auch große Individuenzahlen von Bakterien repräsentieren, erschweren derartige Untersuchungen in hohem Grade, und so ist es verständlich, daß z. B. Herzog und Betzel es vorzogen, zu ihren sehr interessanten Bindungsversuchen Hefe heranzuziehen, von der leicht große Mengen zu beschaffen sind.

Wir haben im Anschluß an die eingangs erwähnten hämolytischen Versuche auch einige Untersuchungen über die Aufnahme der Antiseptika durch Bakterien gemacht und sind dabei auf Erscheinungen gestoßen, die zwar noch weiterer Bearbeitung bedürfen, aber uns interessant genug scheinen, um schon jetzt mitgeteilt zu werden.

Aus Ausgangspunkt unserer Betrachtungen wählen wir zwei Versuche, die in Tab. XVII und XVIII wiedergegeben sind. Eine Reihe von Röhrchen beschicken wir mit steigenden Mengen 1-proz. Phenollösung (0,1—0,9 ccm), füllen überall auf 0,9 ccm mit Wasser auf und setzen 0,1 ccm wässeriger Typhusaufschwemmung hinzu; wir haben also eine Auswertungsreihe vor uns, die nach 2-stündiger Einwirkung auf Agarröhrchen ausgesät die unterste Abtötungsgrenze bei 0,4 ccm 1-proz. Phenollösung ergibt. In einer zweiten Reihe werden dieselben Mengen der 1-proz. Phenollösung mit je 0,1 ccm Bakterienaufschwemmung versetzt, der Wasserzusatz bleibt aber vorderhand aus, erst nach 2-stündiger Einwirkung werden die Röhrchen auf 4 ccm Gesamtvolumen aufgefüllt und davon auf Schrägagar ausgesät. Trotzdem in beiden Reihen dieselben (absoluten) Mengen von Phenol und Bakterien in den entsprechenden Röhrchen aufeinander eingewirkt haben, ist das Resultat in der zweiten Reihe ein total verschiedenes — hier erweisen sich nämlich alle Röhrchen als steril. Dieses anscheinand paradoxe Resultat erscheint aber in anderem Lichte, wenn wir nicht die absolute Menge des Phenols, sondern seine Konzentration in den einzelnen Röhrchen der beiden Reihen in Betracht ziehen. Es zeigt sich dann, daß in der ersten Reihe bei 0,4 Proz. Penol Abtötung erfolgt ist, in der zweiten bei 0,5 Proz. Phenol (0,1 ccm 1-proz. Phenol in 0,2 ccm Gesamtvolumen). Die Uebereinstimmung ist hier keine vollkommene, weil ja in der zweiten Reihe nicht unter 0,5 Proz. heruntergegangen wurde. Im Alkoholversuch finden wir dementsprechend Abtötung in der ersten Reihe bei 24 Proz., in der zweiten Reihe bei 40 Proz. (wurde nicht tiefer gegriffen!),

in der dritten knapp bei 23 Proz. Betrachtet man jedoch die entsprechenden Röhrchen der beiden Reihen im Phenolversuch auf die Bakterienkonzentration, so zeigt sich, daß einer ungefähr gleichen Phenolkonzentration im ersten Röhrchen der zweiten Reihe eine fünffach stärkere Bakterienkonzentration gegenüberstand, als im vierten Röhrchen der ersten Reihe. Es würde daraus folgen, daß für die Desinfektionswirkung des Phenols die Konzentration des Phenols, nicht aber diejenige der abzutötenden Bakterien bestimmend ist.

Tabelle XVII.

In der 1. Reihe wurden steigende Mengen 1-proz. wässeriger Phenollösung auf 0,9 ccm mit dest. H_2O aufgefüllt und je 0,1 ccm wässeriger Typhusbakterienaufschwemmung dazu gesetzt. In der 2. Reihe wurden entsprechende Mengen der Phenollösung mit je 0,1 ccm Bakterienaufschwemmung versetzt und ohne Wasserzusatz 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, sodann wurden sie mit Wasser auf je 1 ccm Gesamtvolumen aufgefüllt und von ihnen ebenso wie von den Röhrchen der 1. Reihe je eine Oese auf ein Schrägagarröhrchen ausgestrichen. Feststellung des Wachstums nach 56 Stunden bei 37° C.

	1-proz. wässerige Phenollösung									
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	0
1. Reihe	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	+++
2. „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

Tabelle XVIII.

Versuchsanordnung in der 1. und 2. Reihe wie in Tabelle XVII, nur mit 80-proz. wässeriger Aethylalkoholllösung. In der 3. Reihe werden steigende Mengen der Alkoholllösung mit 0,4 ccm dest. H_2O und 0,1 ccm Bakterienaufschwemmung versetzt und nach 2 Stunden vor der Aussaat mit dest. H_2O auf je 1 ccm Gesamtvolumen aufgefüllt.

	80-proz. wässerige Aethylalkoholllösung									
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	0
1. Reihe	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	+++
2. „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
3. „	+++	11 K.	—	—	—	—	—	—	—	

Auf diese recht auffallenden Befunde gestützt, sind wir nun daran gegangen, in direkten Versuchen den Zusammenhang zwischen Bakterienmenge und Desinfektionserfolg festzustellen. In Anlehnung an die schon mehrfach zitierte Hämolysearbeit (E.) seien hier folgende Bemerkungen vorausgeschickt. Der Desinfektionsprozeß kann begriffsanalytisch in zwei Teilvorgänge zerlegt werden, die Aufnahme des Desinficiens und die darauffolgende Reaktion des Desinficiens mit dem Bakterienplasma (physikalisch-chemische Zustandsänderung oder chemische Umwandlung), die zum Tode der Bakterienzelle führt. Man wird sich nun vorstellen, daß zur Abtötung die Erreichung einer bestimmten Konzentration des Desinficiens in der Bakterienzelle selbst erforderlich ist (auch Reichel findet diese Annahme durch seine Versuche bestätigt) — wenigstens liegt für die andere Möglichkeit, daß ein Stoff sich bloß durch seine Gegenwart im Milieu, ohne daß er von den Bakterien aufgenommen wird, für sie als tödlich erweist, bisher kein Grund zur Annahme vor[1]). Die Aufnahme eines Desinficiens

1) Vielleicht bei der Abtötung durch Neutralsalze?

kann nun entweder durch Absorption (Lösung) oder durch Adsorption erfolgen, und es kann dann diese Bindung entweder als solche bestehen bleiben oder einer chemischen Bindung resp. Umwandlung Platz machen.

Um diesen Fragen näherzutreten, wurde folgende Versuchsanordnung gewählt. Verschiedene Desinfizientien wurden in je drei Parallelreihen gegenüber verschiedenen Bakterienkonzentrationen ausgewertet, so daß die Wirkung auf eine einfache, 10-fache und 100-fache (ausnahmsweise 1—5—25—125-fache) Bakterienmenge bei konstantem Volumen geprüft wurde. Was können uns nun die Resultate solcher Versuche über den Aufnahmsmodus aussagen? Wird das Desinficiens von den Bakterien absorbiert (gelöst), so wird, falls der Verteilungsquotient nicht allzu stark zugunsten der Bakterienphase ausfällt, innerhalb ziemlich weiter Grenzen die Bakterienkonzentration den Grenzwert nur sehr wenig beeinflussen. Angesichts der relativ sehr kleinen Bakterienmasse ist das Desinficiens meist in großem Ueberschuß vorhanden und es ist nur eine gewisse Konzentration des Desinficiens im Milieu nötig, damit auf Grund des Verteilungsgleichgewichts in den Bakterien die zur Abtötung nötige Konzentration des Desinficiens erreicht wird. Es müßten schon sehr große Bakterienmengen, wie sie in den Desinfektionsversuchen wohl selten zur Verwendung gelangen, dazu gehören, um deutliche Ausschläge nach oben zu bewirken. Nehmen wir ein konkretes Beispiel: angenommen den Fall, Phenol würde von den Bakterien durch Absorption aufgenommen (was tatsächlich der Fall zu sein scheint); als minimale Abtötungskonzentration hätten wir für die einfache Bakterienkonzentration (1 mg feuchte Bakterien in 1 ccm) 0,5 Proz. Phenol gefunden. Der Verteilungsquotient zwischen Bakterien und Wasser sei 10, d. h. in den Bakterien ist das Phenol 10mal stärker konzentriert als im Milieu, bei der Abtötungskonzentration enthalten die Bakterien folglich 5 Proz. Phenol und dies sei als kritische Phenolkonzentration gesetzt. Die betreffende 1 ccm-Probe enthält (bei 0,5 Proz.) 5 mg Phenol, die Bakterien $^1/_{20}$ mg (= 5 Proz. in 1 mg). Nehmen wir jetzt eine 10-fache Bakterienaufschwemmung, d. h. 10 mg Bakteriensubstanz in 1 ccm 0,5-proz. Phenollösung; zur Abtötung bedarf es einer Konzentration von 5 Proz. Phenol in den Bakterien, also $^1/_2$ mg Phenol, die von der Gesamtmenge 5 mg leicht gedeckt werden. Noch bei einer 9-fachen Aufschwemmung (90 mg Bakterien) wird die zur Abtötung nötige Innenkonzentration von 5 Proz. Phenol (= 4,5 mg) innerhalb des Verteilungsgleichgewichts (10:1) erreicht. Erst bei 100-facher Aufschwemmung würden wir die nötige Innenkonzentration von 5 Proz. Phenol (= 5 mg) nicht erreichen, da dann die ganze vorhandene Phenolmenge in die Bakterien hinein müßte, was dem Verteilungssatz widersprechen würde. Die Bakterien würden hier nur 4,545 mg Phenol aufspeichern können, also etwas weniger als zur kompletten Abtötung dieser Menge (= 5 mg) nötig ist. Um die 100-fache Bakterienkonzentration abzutöten, müßten wir mit der Phenolkonzentration etwas höher, auf 0,55 Proz. greifen müssen. Ganz allgemein ausgedrückt ist die Bakterienmenge im Fall der Absorption so lange ohne Einfluß auf den desinfektorischen Grenzwert, als die Bakterienkonzentration (Bakteriengewicht: Volumen) den Verteilungsquotienten (Milieu: Bakterien) nicht erreicht.

Ist der Verteilungsquotient sehr stark zugunsten der Bakterienphase verschoben (was wohl nur höchst selten der Fall sein dürfte),

dann werden nach dem Gesagten größere Ausschläge mit steigender Bakterienkonzentration zu gewärtigen sein. Das wird auch meist in denjenigen Kombinationen zutreffen, wo Desinfizientien von den Bakterien adsorbiert werden, da hier meist in stark verdünnten Lösungen die Adsorption eine fast vollständige ist; je größer also in der Adsorptionsisotherme die Konstante α, desto mehr wird sich der Einfluß der Bakterienkonzentration auf den Desinfektionsgrenzwert geltend machen.

Wir wollen nun nach diesen theoretischen Vorbemerkungen das von uns gewonnene Versuchsmaterial vorführen. Die Versuche wurden so ausgeführt, daß von jungen Schrägagarkulturen sehr dichte Aufschwemmungen hergestellt wurden (1 Schrägagarkultur in 1 ccm Wasser) und davon die entsprechenden Verdünnungen. Zur Beurteilung der Versuchsergebnisse sei noch bemerkt, daß die Verwendung dichter Aufschwemmungen den Nachteil mit sich bringt, daß hier die unvermeidlichen Beimengungen vom Nährboden (das den feuchten Belag imbibierende Kondenswasser) hier relativ konzentriert sind und einen Teil des Antiseptikums binden können. Das Zentrifugieren gewaschener Aufschwemmungen würde zwar den Fehler beheben und nach der physikalisch-chemischen Seite einwandfreiere Resultate liefern; doch wäre vom biologischen Standpunkt eine Schädigung der Bakterien und damit Beeinflussung ihrer Absterbeordnung zu befürchten. Sodann aber macht

Vorbemerkung zu den Tabellen XIX—XXXV.

Versuchsanordnung wie bisher, nur ist die Aufschwemmung in den einzelnen Reihen 100-fach, 10-fach, 1-fach (resp. 125-fach, 25-fach, 5-fach, 1-fach) davon kommt je 0,1 ccm in 1 ccm Gesamtvolumen.

Tabelle XIX.

Aussaat nach $4^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 48 Stunden bei 37° C.

1-proz. w. Phenol	Aufschwemmung			
	125-f.	25-f.	5-fach	1-fach
0,60	—	—	—	—
0,50	—	—	—	—
0,40	+++	++	—	—
0,30	+++	+++	+++	6 K.
0 (Kontr.)	+++	+++	+++	+++

Tabelle XX.

Aussaat nach 3 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 72 Stunden bei 37° C.

80-proz. Aethylalkohol	Aufschwemmung		
	100-fach	10-fach	1f-ach
0,50	—	—	—
0,40	—	—	—
0,30	5 K.	—	—
0,20	+++	+++	++
0 (Kontr.)	+++	+++	+++

Tabelle XXI.

Aussaat nach 3 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 72 Stunden bei 37° C.

KOH $^1/_{16}$ n. L.	Aufschwemmung		
	100-fach	10-fach	1-fach
0,80	—	—	—
0,40	+	45 K.	—
0,20	+++	+	1 K.
0,10	+++	+++	+++
0(Kontr.)	+++	+++	+++

Tabelle XXII.

Aussaat nach 3 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 72 Stunden bei 37° C.

HCOOH $^1/_{1600}$	Aufschwemmung		
	100-fach	10-fach	1-fach
0,80	—	—	—
0,40	+	16 K.	—
0,20	+++	+++	+
0,10	+++	+++	80 K.
0 (Kontr.)	+++	+++	++

Tabelle XXIII.

Aussaat nach 2 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 96 Stunden bei 37° C.

$HgCl_2$		Aufschwemmung		
		100-fach	10-fach	1-fach
$^1/_{25600}$	0,40	—	—	—
	0,20	11 K.	—	—
	0,10	+	—	—
$^1/_{204800}$	0,40	+++	—	—
	0,20	+++	8 K.	—
	0,10	+++	+++	+
$^1/_{638400}$	0,40	+++	+++	40 K.
	0,20	+++	+++	++
	0,10	+++	+++	+++
0 (Kontr.)		+++	+++	+++

Tabelle XXIV.

Aussaat nach $2^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 96 Stunden bei 37° C.

$KMnO_4$		Aufschwemmung		
		100-fach	10-fach	1-fach
$^1/_{1000}$	0,40	—	—	
	0,20	—	—	
	0,10	++	—	
$^1/_{8000}$	0,40	+++	—	—
	0,20	+++	—	—
	0,10	+++	6 K.	—
$^1/_{64000}$	0,40	.	100 K.	—
	0,20	.	+++	3 K.
	0,10	.	+++	+
0 (Kontr.)		+++	+++	+++

Tabelle XXV.

Aussaat nach 3 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 72 Stunden bei 37° C.

KCN 2,5-proz. Lösung	Aufschwemmung		
	100-fach	10-fach	1-fach
0,60	—	—	—
0,40	++	—	—
0,30	+	1 K.	—
0,20	+++	++	—
0,15	+++	+++	+
0,10	+++	+++	+++
0 (Kontr.)	+++	+++	+++

Tabelle XXVI.

Aussaat nach 3 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 96 Stunden bei 37° C.

Oxalsäure $^1/_{800}$	Aufschwemmung		
	100-fach	10-fach	1-fach
0,80	—	—	—
0,40	++	—	—
0,20	+++	++	50 K.
0,10	+++	+++	++
0,05	+++	+++	+++
0 (Kontr.)	+++	+++	+++

Tabelle XXVII.

Aussaat nach $6^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 5 Tagen bei 37° C.

HCl 0,25-prom. Lösung	Aufschwemmung		
	100-fach	10-fach	1-fach
0,80	—	—	—
0,40	+++	15 K.	80 K.
0,20	+++	++	++
0,10	+++	+++	+++
0 (Kontr.)	+++	+++	+++

Tabelle XXVIII.

Aussaat nach $6^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 5 Tagen bei 37° C.

H_2SO_4 0,25-prom. Lösung	Aufschwemmung		
	100-fach	10-fach	1-fach
0,80	—	—	—
0,40	++	—	—
0,20	+++	6 K.	1 K.
0,10	+++	+++	++
0 (Kontr.)	+++	+++	+++

Tabelle XXIX.

Aussaat nach $6^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 5 Tagen bei 37° C.

Anilinwasser	Aufschwemmung		
	100-fach	10-fach	1-fach
0,60	—	—	—
0,40	—	—	—
0,30	+++	++	—
0,20	+++	+++	+++
0 (Kontr.)	+++	+++	+++

Tabelle XXX.

Aussaat nach 5 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 96 Stunden bei 37° C.

$CHCl_3$ ges. Lös. in 2-proz. Aethylalkohol	Aufschwemmung		
	100-fach	10-fach	1-fach
0,80	++	2 K.	—
0,60	+++	80 K.	22 K.
0,50	+++	++	50 K.
0,40	+++	+++	++
0 (Kontrolle)	+++	+++	+++

Tabelle XXXI.

Aussaat nach 4 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 96 Stunden bei 37° C.

Ges. w. Harnstofflösung	Aufschwemmung		
	100-fach	10-fach	1-fach
0,60	—	—	—
0,40	100 K.	—	—
0,30	+++	++	+
0,20	+++	+++	+++
0 (Kontrolle)	+++	+++	+++

Tabelle XXXII.

Aussaat nach $3^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 72 Stunden bei 37° C.

Aceton		Aufschwemmung		
		100-fach	10f-ach	1-fach
10-proz.	0,80	80 K.		
	0,60	+++		
	0,50	+++	—	
5-proz.	0,80	+++	—	
	0,60		1 K.	—
	0,50		40 K.	—
	0,40		++	3 K.
	0,30		+++	80 K.
	0,20		.	++
0 (Kontrolle)		+++	+++	+++

Tabelle XXXIII.

Aussaat nach $2^3/_4$ Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 60 Stunden bei 37° C.

Formaldehyd 0,5-proz. Lösung	Aufschwemmung		
	100-fach	10-fach	1-fach
0,80	—	—	—
0,40	6 K.	6 K.	1 K.
0,20	++	++	30 K.
0,10	+++	+++	++
0,05	+++	+++	+++
0 (Kontr.)	+++	+++	+++

Tabelle XXXIV.

Aussaat nach $4^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 72 Stunden bei 37° C.

Ges. wäss. Chinin-HCl-Lösung $^1/_4$	Aufschwemmung 100-fach	10-fach	1-fach
0,80	—	—	—
0,60	—	—	—
0,40	60 K.	—	—
0,30	++	—	—
0,20	+++	100 K.	100 K.
0 (Kontr.)	+++	+++	+++

Tabelle XXXV.

Aussaat nach $4^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 72 Stunden bei 37° C.

Ges. wäss. LiBr-Lösung $^1/_4$	Aufschwemmung 100-fach	10-fach	1-fach
0,80	—	—	—
0,60	+++	—	—
0,40	+++	+++	—
0,30	+++	+++	60 K.
0,20	+++	+++	+++
0 (Kontr.)	+++	+++	+++

sich bei Abschätzung der dem Grenzwert nahestehenden, fast völligen oder teilweisen Abtötungserfolge der Uebelstand bemerkbar, daß bei gleicher prozentueller Abtötungsquote, sagen wir z. B. 99 Proz., die Ueberbleibsel bei der einfachen Aufschwemmung etwa 100 Kolonieen, bei der 100-fachen ober ein dicht bewachsenes Röhrchen (etwa ++ bis +++ nach unserer gewöhnlichen Schätzung) ergeben. Man müßte also, um genau vergleichbare Resultate zu bekommen, unmittelbar vor der Aussaat durch entsprechende Verdünnung der Proben die Bakteriendichte der zu vergleichenden Versuchsreihen ausgleichen — doch würde hiermit angesichts der Reversibilität mancher Bindungsvorgänge wieder eine Ungleichheit der Proben geschaffen in bezug auf das Desinficiens und seinen mit Aussaat auf den frischen Nährboden mitübertragenen Rest. Vergleichende Versuche nach dieser Richtung sollen noch, wenn möglich, angestellt werden.

Wenn wir die soeben wiedergegebenen und auch andere hier nicht mitgeteilte Versuche überblicken, so finden wir einerseits Stoffe, bei denen die Grenzwerte für verschieden konzentrierte Bakterienaufschwemmungen fast zusammenfallen, wie Alkohol, Phenol, Harnstoff, Anilin, Formaldehyd (?), anderseits solche, bei denen eine ausgesprochene Steigerung der Grenzwerte mit steigender Bakterienkonzentration festzustellen ist (Aceton, $HgCl_2$, $KMnO_4$). Beim Aceton entspricht der Steigerung der Bakteriendichte 1:10:100 eine solche der Grenzwert 2:3:8 Proz., beim $HgCl_2$ 1:2:16, beim $KMnO_4$ 1:4:64 (die Verhältniszahlen sind nur annähernd, die exakten Werte dürften bei der Exponentialreihe zwischen den geprüften Verdünnungen zu suchen sein). Zwischen diesen beiden Gruppen finden sich als Uebergangsfälle solche Stoffe, bei denen nur mäßige Steigerungen der Grenzwerte den steil ansteigenden Bakterienkonzentrationen entsprechen. Hierher gehören: KOH, HCOOH. KCN, Oxalsäure HCl, H_2SO_4, KJO_4, $CHCl_3$, Chinin-HCl, LiBr. Es wird wohl anzunehmen sein, daß die Bindung dieser Stoffe im Sinne der früheren Ausführungen auf Adsorption beruht — die starken Verschiebungen der Grenzwerte im Falle der $HgCl_2$ und $KMnO_4$ ist wahrscheinlich die Folge davon, daß hier angesichts der besonders ausgesprochenen Affinitäten aus verdünnten Lösungen diese Stoffe fast gänzlich dem Milieu entzogen werden. Die Verhältnisse bei der Hämolyse und die daraus sich ergebende Gruppierung der verschiedenen Stoffe sind fast identisch mit den soeben geschilderten; nur Aceton, das hier zur zweiten Gruppe gehört, ist dort in der ersten zu finden. Besonders

hervorheben möchte ich auch den Fall des LiBr (Tab. XXXV); die dort zutage tretende Abhängigkeit des Grenzwertes von der Konzentration spricht ziemlich stark gegen eine rein osmotische Auffassung der abtötenden Wirkung des LiBr. Bestünde diese zu Recht, so müßte wohl der Grenzwert von der Bakterienkonzentration unabhängig sein.

Weitere Versuche befaßten sich mit der Frage, ob die den Desinfektionsprozeß bedingende Aufnahme des Desinficiens ein reversibler Vorgang ist. Handelt es sich um typische Absorptions- oder Adsorptionsvorgänge, so wissen wir ja, daß dieselben durch absolute Reversibilität gekennzeichnet sind. Es können aber sekundäre, der Aufnahme folgende Vorgänge die Reversibilität einschränken oder gar ganz aufheben. Als solche kommen in Betracht: Bildung unlöslicher Verbindungen (Fällungen), die das gebundene Desinficiens dem Gleichgewichtssystem entziehen (teilweise bei $HgCl_2$ und anderen Schwermetallsalzen), Verbrauch des gebundenen Desinficiens durch chemische Umsetzung mit dem Bakterienprotoplasma ($KMnO_4$). Es ist selbstverständlich, daß die Reversibilität sich nur auf die Aufnahme des Desinficiens beziehen kann, die eigentliche Abtötung ist ihrer Natur nach irreversibel, höchstens sind diejenigen Zustandsänderungen des Bakterienprotoplasmas, die dazu führen, bis zu einem gewissen Grad oder Zeitpunkt reversibel.

Unsere Versuche, die sich vorläufig auf Phenol, $HgCl_2$ und $KMnO_4$ beschränken mußten, wurden in der Weise ausgeführt, daß einerseits die gleichen Mengen des Desinficiens und der Bakterien in kleinem Volumen (0,2 ccm), anderseits in größerem (1 ccm) zusammengebracht wurden und nach Ablauf einer gewissen Zeit ($2^1/_2$ Stunde) das Volumen der Proben der ersten Reihe durch Wasserzusatz auf 1 ccm gebracht wurde (Tab. XXXVI u. XXXVIII). Beim Phenol hat sich auch hier in Uebereinstimmung mit den früheren Ergebnissen nur die Konzentration des Phenols, nicht aber diejenige der Bakterien als maßgebend erwiesen, in beiden Reihen stellt 0,5 Proz. die wirksame Grenzdosis dar. Außerdem aber sieht man, daß die zum Schluß vorgenommene Verdünnung den Desinfektionsprozeß nach dieser Zeit nicht mehr rückgängig machen kann (ob das nach kürzeren Zeiträumen und bis zu welchem Grade möglich ist, darüber müßten besonders darauf gerichtete Versuche entscheiden). Beim $HgCl_2$ ergab sich ebenfalls entsprechend den Ergebnissen der Auswertungsversuche (Tab. XXIII), daß hier nicht allein die Konzentration des Desinficiens, sondern auch ihr Verhältnis zur Konzentration der Bakterien von Bedeutung ist, dementsprechend zeigen die beiden Reihen in Tab. XXXVIII keine nennenswerten Unterschiede.

Weiter wurde die Reversibilität der Aufnahme von Phenol, $HgCl_2$ und $KMnO_4$ in der Weise geprüft, daß zu bestimmten Mengen der Desinfizientien einerseits eine gewisse Menge Bakterienaufschwemmung auf einmal, anderseits aber fraktioniert zugesetzt wurde. Um Konzentrationsdifferenzen nach Möglichkeit auszuschalten, wurde in dem Phenol- und $HgCl_2$-Versuch (Tab. XXXVII und XXXIX) der Bakterienzusatz so bemessen, daß er aus 0,1 ccm einer dünnen Aufschwemmung + 0,1 ccm einer 4-fach dichteren bestand. In der Reihe mit fraktioniertem Zusatz wurde 0,1 ccm der dünneren Aufschwemmung mit der entsprechenden Menge des Desinficiens in 0,9 ccm Gesamtvolumen zusammengebracht und erst nach 30 Minuten 0,1 ccm der dichteren Aufschwemmung zugesetzt. In der Kontrollreihe wurden beide Zusätze auf einmal mit dem Desinficiens in 1 ccm zusammengebracht, so daß also während der

ersten 30 Minuten des Versuchs die Konzentrationsdifferenz der Desinfizientien in beiden Reihen kaum von Belang war (0,9—1 ccm). Das Resultat dieser Versuche zeigt ganz eindeutig, daß beim Phenol die Fraktionierung der Zusätze auf den Enderfolg keinen Einfluß ausgeübt hat, daß dagegen beim $HgCl_2$ und $KMnO_4$ eine deutliche Verschlechterung des Abtötungseffektes dadurch bewirkt wurde. Es ergibt sich daraus, daß beim Phenol ein reversibler, bei den beiden anderen Stoffen ein teilweise irreversibler Aufnahmsvorgang anzunehmen ist.

Die entsprechenden Versuche bei der Hämolyse haben für alle drei Stoffe analoge Ergebnisse geliefert. Das ist natürlich eine recht bedeutungsvolle Uebereinstimmung, indem sie zeigt, daß für so weit voneinander differente Zellarten dieselben Mechanismen der Stoffaufnahme (wenigstens für die hier untersuchten Gifte) Geltung haben. Es wird aber nicht uninteressant sein, auf einen ziemlich ausgesprochenen quantitativen Unterschied zwischen den Hämolyse- und Desinfektions-

Tabelle XXXVI.

Je 0,1 ccm der unten angegebenen Phenollösungen wird mit je 0,1 ccm der Typhusaufschwemmung zusammengebracht, und zwar in der I. Reihe unter Zusatz von 0,8 ccm dest. H_2O. In der II. Reihe erfolgt dieser Zusatz erst nach $2^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur kurz vor der Aussaat. Feststellung der Resultate nach 48 Stunden bei 37° C.

0,1 ccm Phenollösung	I. Reihe	II. Reihe
6 Proz.	—	—
5 „	—	—
4 „	+	—
3 „	+++	—
2 „	+++	—
1,5 „	+++	—
1 „	+++	1 K.
0,8 „	+++	++
0,6 „	+++	+++
0	+++	

Tabelle XXXVII.

In der I. Reihe wird (0,1 ccm einer einfachen Typhusaufschwemmung + 0,1 ccm einer 4-fachen) mit abgestuften Mengen einer 1-proz. Phenollösung in je 1 ccm Gesamtvolumen zusammengebracht; in der II. Reihe werden die entsprechenden Phenolmengen mit 0,1 ccm der einfachen Aufschwemmung in je 0,9 ccm Gesamtvolumen zusammengebracht und erst nach Ablauf von 30 Min. bei Zimmertemperatur wird 0,1 ccm der 4-fachen Aufschwemmung zugesetzt und so das Volumen auf je 1 ccm gebracht. Aussaat nach $2^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 48 Stunden bei 37° C.

1-proz. Phenollösung	I. Reihe	II. Reihe
0,70	—	—
0,60	—	—
0,50	—	—
0,40	+++	++
0,30	+++	+++
0,20	+++	+++
0	+++	

Tabelle XXXVIII.

Versuchsanordnung wie in Tab. XXXVI.

0,1 ccm $HgCl_2$-Lösung	I. Reihe	II. Reihe
$^1/_{51200}$	—	—
$^1/_{102400}$	—	2 K.
$^1/_{204800}$	1 K.	18 K.
$^1/_{409600}$	+	25 K.
$^1/_{819200}$	+++	+++
$^1/_{1638400}$	+++	+++
0	+++	

Tabelle XXXIX.

Versuchsanordnung wie in Tab. XXXVII.

$HgCl_2$ $^1/_{204800}$	I. Reihe	II. Reihe
0,80	—	—
0,40	—	7 K.
0,20	—	++
0,10	++	+++
0,05	+++	+++
0,025	+++	+++
0	+++	

Tabelle XL.

Abgestufte Mengen einer $KMnO_4$-Lösung wurden in 4 Parallelreihen mit derselben Menge Typhusaufschwemmung (0,6 ccm), jedoch in verschiedenem Tempo zusammengebracht. In der I. Reihe erfolgte der Zusatz auf einmal in 1 ccm Gesamtvolumen, in der II. Reihe wurde das $KMnO_4$ zunächst mit 0,1 ccm Aufschwemmung in 0,5 ccm Gesamtvolumen zusammengebracht und erst nach Ablauf von 15 Minuten bei Zimmertemperatur wurden die restlichen 0,5 ccm Aufschwemmung zugesetzt. In der III. Reihe wird das $KMnO_4$ zuerst mit 0,3 ccm Aufschwemmung in 0,7 ccm Gesamtvolumen versetzt, nach 15 Minuten erfolgt der weitere Zusatz von 0,3 ccm Aufschwemmung. In der IV. Reihe wird zum $KMnO_4$ zuerst 0,1 ccm der Aufschwemmung (in 0,5 ccm) zugesetzt und dann jede 15 Minuten weitere 0,1 ccm, bis die Gesamtmenge der Aufschwemmung 0,6 ccm und das Gesamtvolumen 1 ccm erreicht hat. Aussaat nach 3 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 72 Stunden bei 37° C.

$KMnO_4$-Lösung		I. Reihe	II. Reihe	III. Reihe	IV. Reihe
$^1/_{1000}$	0,20	—	—	—	—
	0,10	—	—	—	—
$^1/_{8000}$	0,40	—	—	2 K.	—
	0,20	—	40 K.	8 K.	13 K.
	0,10	100 K.	+++	+++	+++
$^1/_{64000}$	0,40	+++	+++	+++	+++
0		+++			

versuchen und $KMnO_4$ hinzuweisen. Während im hämolytischen Versuch eine gegebene Blutkörperchenmenge in kürzester Zeit die 200- bis 400-fach lösende Grenzdosis unwirksam macht, ist das hier nur für das etwa 2—4-fache Multiplum anzunehmen. Der Grund dieser großen Differenz kann in zwei Umständen zu suchen sein. Bei der Hämolyse haben wir angenommen, daß schon die Oxydation der empfindlichsten Bestandteile der Blutzelle genügt, um durch Störung des in ihr herrschenden Gleichgewichts Hämoglobinaustritt zu bewirken, daß aber auch nach der Hämolyse die Oxydation des Erythrocyteninhalts fortschreitet und etwa das 200—400-fache Multiplum der zur Hämolyse nötigen Menge verbraucht („methämolytische Reaktion"). Bei Bakterien könnte man nun vielleicht annehmen, daß zur Abtötung eine viel weiter fortgeschrittene Oxydation nötig ist, und daß die vollständige Oxydation der Bakterienzelle nur mehr einen bescheidenen Ueberschuß an $KMnO_4$ verbraucht. Anderseits ist hier, wie überhaupt beim Vergleich der Hämolyse mit der Bakterizidie im Auge zu behalten, daß die relative Menge der gebräuchlichen Bakterieneinsaaten sehr gering ist im Vergleich zu derjenigen der Blutkörperchen, und daß daher die Ausschläge bei denjenigen Stoffen, bei denen die Bakterienmenge von Bedeutung ist, geringfügiger ausfallen müssen, als bei Hämolyseversuchen. Dieser Umstand bedingt ja auch die Schwierigkeit direkter Bindungsversuche mit Desinfizientien, indem geringe Bakterieneinsaaten kaum meßbare Abnahmen des Desinficiens erwarten lasse, großen aber die noch zu besprechenden Uebelstände anhaften. Auch die zum Teil beträchtlichen Differenzen, die die hämolytischen und desinfektorischen Grenzwerte derselben Gifte untereinander aufweisen, sind vielleicht zum Teil auf die dabei in Betracht kommenden Massedifferenzen zurückzuführen[1]).

1) Andere nicht minder interessante und oft ganz enorme Unterschiede, wie beim Saponin, Natriumglykocholat, Natriumoleat, die hämolytisch stark, desintektorisch fast

Wenn wir von den hier gewonnenen Erkenntnissen für die Desinfektionspraxis Nutzen ziehen wollten, so ergäbe sich daraus die Forderung bei solchen Antisepticis, die nur oder vorwiegend ihrer Konzentration nach wirken (vor allem aus der Phenolgruppe) jede unnütze Verdünnung des Desinficiens als schädlich zu vermeiden und, soweit möglich und tunlich, das Desinficiens zu der zu deninfizierenden Masse in Substanz, nicht aber in Lösung hinzuzufügen. Handelt es sich dagegen um Antiseptika vom Typus des $HgCl_2$, so ist hier eine Verdünnung nicht schädlich, da hier vor allem das relative Verhältnis der Massen von Desinficiens und Substrat über den Erfolg entscheidet.

Wenn wir in der Literatur nach Untersuchungen über die vorhin dargestellten Fragen Umschau halten, so finden wir zunächst von Bechhold, Morawitz, Freundlich sowie Paul, Birstein und Reuss die Bedeutung der Adsorptionsvorgänge für die Analyse der Desinfektionswirkung hervorgehoben. Sodann hatten Herzog und Betzel den glücklichen Gedanken, an Stelle von Bakterien für ihre direkten Bindungsversuche Hefe zu verwenden, die leicht in großer Menge zu beschaffen und besser zu handhaben ist. Auf Grund ihrer Untersuchungen kommen diese Autoren zu dem Schluß, daß Chloroform, $AgNO_3$, $HgCl_2$, Phenol (hier ergaben sich Unregelmäßigkeiten) durch einen reversiblen Adsorptionsprozeß von der Hefe gebunden werden, während vom Formaldehyd eine bestimmte Hefemenge unabhängig von seiner Konzentration immer dieselbe Menge bindet. Bezüglich des Phenols, das uns besonders interessiert, kam Reichel in seiner bereits mehrfach erwähnten gründlichen Studie zu dem Schluß, daß es von den Bakterien durch echte Absorption gebunden wird, eine Anschauung, mit der auch unsere Versuchsergebnisse am besten übereinstimmen würden. Ebenfalls die Aufnahme des Phenols durch Bakterien behandelt in einer Reihe von Abhandlungen Küster mit seinen Schülern (Autenrieth, Meyer, Bojakowsky). Meyer, dessen Versuchsanordnung sich der unsrigen am meisten nähert, findet „nur in weiten Grenzen eine gesetzmäßige Beziehung zwischen der absoluten Menge des Desinfektionsmittels und der Anzahl der abzutötenden Bakterien“ und meint, daß „bei der quantitativen Ausmessung der keimtötenden Kraft des Phenols die absolute Menge desselben von ausschlaggebender Bedeutung ist“. Unserer Ansicht nach berechtigen die spärlichen und dazu oft einander widersprechenden Versuchsresultate Meyers durchaus nicht zu solchen Schlüssen, jedenfalls aber könnten dieselben höchstens unter den besonderen Versuchsbedingungen, wie sie hier zur Anwendung kamen, Geltung beanspruchen. Durch Einführen von zum Teil recht beträchtlichen Bouillonmengen in die Proben wird eine derartige Komplikation geschaffen, daß die Resultate für die Entscheidung der Frage nach den quantitativen Verhältnissen zwischen Phenol und Bakterien außer Betracht kommen. Auch ist selbstverständlich die Ausdehnung der Versuche auf 24 Stunden bei 37° C in Anwesenheit von Bouillon eine vom theoretischen Standpunkt recht anfechtbare Methode, die höchstens zur Entscheidung rein praktischer Fragen herangezogen werden dürfte. Die von Küster und Bojakowsky bezüglich des quantitativen Verhaltens des Phenols bei der Einwirkung auf Bakterien erzielten Resultate haben zu einer endgültigen

unwirksam zu nennen sind, müssen wohl auf spezifischen Differenzen der Substrate beruhen.

Entscheidung über die Bindungsweise nicht geführt, stehen jedoch mit den unserigen nicht in Widerspruch. Freilich scheint uns die von diesen Autoren angewandte Methodik nach mancher Richtung hin der Kritik zugänglich und mahnt zu großer Vorsicht bei der theoretischen Deutung der damit gewonnenen Ergebnisse. Das Arbeiten mit Phenolkonzentrationen, die unter den gegebenen Versuchsbedingungen meist nicht zur Abtötung der Bakterieneinsaat führen, die Verwendung sehr dichter Bakterienaufschwemmung, die Ausdehnung der Versuche auf 24—120 Stunden bei 37° C, die Verwendung des Asbestfilters sind alles Faktoren, die zu starken kaum übersehbaren Komplikationen führen können. In den Versuchsproben ist die Möglichkeit einer Vermehrung der eingesäten Keime oder wenigstens der durch Auslese oder Anpassung dazu befähigten kaum auszuschließen; nebenher kommt es wahrscheinlich durch Autolyse zu einem Zerfall der durch das Phenol abgetöteten und damit zu einem Freiwerden der von ihnen gebundenen Phenolanteile. Durch Verwendung schonend abgetöteter Bakterien ließen sich vielleicht in derartigen Versuchen manche dieser Mißstände vermeiden. Daß „die Phenoladsorption durch Bakterien nur von der Kapazität der lebenden Mikroorganismen abhängig und mit ihrem Tode erschöpft ist", erscheint uns kaum wahrscheinlich, vielmehr dürfte die von K. und B. beobachtete Zunahme des Phenoltiters nach einigen Tagen eher auf den Zerfall abgetöteter Bakterien zurückzuführen sein (der doch mit dem Tode nicht identisch ist).

Es mag endlich nicht unerwähnt bleiben, daß nach Regenstein für die Entwickelungshemmung der Bakterien durch $HgCl_2$ und Phenol ähnliche Gesetzmäßigkeiten obwalten, wie sie hier für die Desinfektionswirkung erhoben würden.

Ueber Heilversuche.

In weiterer Verfolgung der oben besprochenen Reversibilitätsfragen wurde noch eine Reihe von Heilversuchen angestellt, die darüber belehren sollten, ob und unter welchen Umständen eine etwaige Abspaltung des bereits gebundenen Desinficiens möglich ist. Die Veranlassung zu diesen Versuchen gaben vor allem die paradoxen Erscheinungen bei den hämolytischen Heilversuchen, wo in manchen Kombinationen Antidota, die sich im Schutzversuch bestens bewähren, im Heilversuch die Giftwirkung steigern.

Heilversuche sind nun in besonders ausgedehntem Maße bei der Sublimatdesinfektion ausgeführt worden. Die leitende Idee war dabei, bei der Kontrolle der Resultate die entwickelungshemmende Wirkung ungebundener Ueberschüsse des Desinficiens, die man mit der Probeaussaat auf den frischen Nährboden mitüberbringt, nach Möglichkeit auszuschalten. Es sollen nämlich durch das Desinficiens geschädigte, aber nicht abgetötete Keime selbst gegen Spuren des betreffenden Giftes, die an sich für normale Bakterien harmlos sind, äußerst empfindlich sein. Um diesem Uebelstand abzuhelfen, wurde zuerst von Geppert, dann von vielen anderen die Gepflogenheit eingeführt, durch im Ueberschuß zugeführte chemische Antitota den ungebundenen Rest des Desinficiens unschädlich zu machen. Gegen diesen im Prinzip wohl gerechtfertigten Vorgang ließe sich nichts einwenden, wenn es feststünde, daß tatsächlich nur der freie Ueberschuß des Antiseptikums neutralisiert wird; nun hat aber Bechhold mit Recht darauf hin-

gewiesen, daß im Falle reversibler Bindung durch eine derartige Behandlung das Adsorptionsgleichgewicht gestört wird, die Bakterien einen Teil des adsorbierten Giftes abgeben können und so eine scheinbar schwächere Desinfektionswirkung vorgetäuscht wird. Es werden so zunächst Verhältnisse geschaffen, die der Desinfektionspraxis meist nicht entsprechen (das wäre übrigens nicht von Uebel, da dadurch die Anforderungen an Antiseptika erhöht werden), aber auch bei theoretischen Studien ist dadurch Gelegenheit zu Fehlschlüssen gegeben. Durch den Zusatz des Antidotums wird zunächst der freie Ueberschuß des Antiseptikums chemisch gebunden, dadurch wird der bereits erreichte Gleichgewichtszustand — wir nehmen an, es handle sich um absolut reversible Absorption oder Adsorption — gestört, gebundenes Desinficiens wird nun vom Bakterium abgespalten, um in das Milieu hinauszutreten, hier findet es freies Antidot (dieses wird ja meistens in Ueberschuß zugesetzt), wird davon gebunden, es folgt weitere Abspaltung und Bindung und so fort, bis sich endlich ein neuer, vom ursprünglichen ganz verschiedener Gleichgewichtszustand herausgebildet hat. Ist neben dem reversibel gebundenen Anteil auch ein irreversibel gebundener vorhanden, so kann auch diese Irreversibilität (die ja nur relativ ist) event. durch die Gewalt der chemischen Affinitäten überwunden und so selbst ein Teil des „festgebundenen Giftes" den Bakterien entzogen werden (in den hämolytischen Heilversuchen von E. sind Belege für diese Anschauungen zu finden). Wir sehen daraus, daß selbst, wenn uns in jedem Fall die Menge des freien Ueberschusses an Desinficiens genau bekannt wäre und wir eine ihr genau äquivalente Menge des Antidots verwenden würden, Störung des Gleichgewichts nicht zu vermeiden wären. Außerdem ist noch zu berücksichtigen, daß Antidota doch zumeist für die Bakterien nicht ganz indifferente Stoffe darstellen, was eigentlich zu verlangen wäre, wenn man weitere Komplikationen der an sich schon recht komplizierten Vorgänge vermeiden will.

Um nun nach diesem theoretischen Diskurs zu unseren Versuchen zurückzukehren, so hatten wir bei Heilversuchen mit $(NH_4)_2S$ sowie $Na_2S_2O_3$ bei der $HgCl_2$-Desinfektion nur sehr zweifelhafte Erfolge zu verzeichnen. Es wurde wohl gegenüber den nicht neutralisierenden Kontrollen Wachstum bei höheren $HgCl_2$-Konzentrationen erzielt, doch waren die resultierenden Reihen sehr unregelmäßig, die Resultate launisch, so daß in den synergetischen Versuchen, wie oben bemerkt, von einer nachträglichen Unschädlichmachung des $HgCl_2$ Abstand genommen wurde.

Zahlreiche Untersuchungen wurden in dieser Richtung von uns mit $KMnO_4$ unternommen. Es zeigte sich, daß zahlreiche anorganische und organische reduzierende Substanzen ebenso wie die hämolytische, so auch die bakterientötende Wirkung des $KMnO_4$ im Schutzversuch aufzuheben imstande sind. Anders verhält es sich im Heilversuch; die Reaktionsgeschwindigkeit des Permanganats scheint so groß zu sein, daß schon nach Ablauf von 10 Minuten bei Zimmertemperatur (zu dieser Zeit wurden im Heilversuch die Antidota zugesetzt) nur mehr bescheidene Erfolge mit Stoffen zu erzielen sind, die im Schutzversuch prompt wirken. So verhalten sich als Antidota $KAsO_2$, KCN, Alkohol, Aceton, Phenol, Oxalsäure, H_2S, $(NH_4)_2S$, Traubenzucker. Bei manchen von diesen Stoffen wiederholt sich, wenn auch in geringerem Grade, die bei der Hämolyse in manchen Kombinationen beobachtete paradoxe

Erscheinung, daß die Antidota — im Schutzversuch wirksam — im Heilversuch sogar die Desinfektionswirkung des $KMnO_4$ etwas steigern. Ob auch eine Reaktionsbeschleunigung eintritt, wie sie im hämolytischen Heilversuch durch sofortige Hämolyse sich kundgibt, hatten wir noch keine Gelegenheit zu untersuchen. Als solche Stoffe wären hier zu nennen Aceton, KCN, $(NH_4)_2S$, Oxalsäure. Worauf diese Erscheinung zurückzuführen ist, läßt sich nicht leicht entscheiden; bei der Hämolyse handelte es sich zumeist um Ausschaltung einer durch den Ueberschuß des Hämolytikums bedingten Hemmung der Hämolyse. Hier wäre vielleicht daran zu denken, daß bei dem schnellen Ablauf der $KMnO_4$-Reaktion die nachträglich zugesetzten Antidota kein freies $KMnO_4$ mehr vorfinden und nun sich an die Bakterien verankern, die vom $KMnO_4$ bereits beeinflußt (wenn auch nicht abgetötet) der neuen (sonst vielleicht nicht merkbaren) Schädigung durch das Antidot nicht gewachsen sind. In anderen Fällen (bei sehr niedrigen Konzentrationen mancher Antidota) versagt freilich auch diese Erklärungsweise.

Tabelle XLI.

Jedes Röhrchen enthält in 0,1 ccm Typhusaufschwemmung sowie die unten angegebenen Mengen von $KMnO_4$ und den Antidotis in 1 ccm Gesamtvolumen. Die Reihenfolge der Zusätze ist in Reihe I [$KMnO_4 + H_2O$ + Antdot], nach 10 Minuten langem Kontakt bei Zimmertemperatur erfolgt Zusatz der Bakterien (Schutzversuch). In Reihe II ist die Reihenfolge: [$KMnO_4 + H_2O$ + Bakterien], nach 10 Minuten erfolgt Zusatz des Antidots (Heilversuch). Aussaat nach 3 Stunden bei Zimmertemperatur, Feststellung der Resultate nach 56 Stunden bei 37° C.

$KMnO_4$-Lösung		Zusatz								
		0 (Kontr.)	0,5 ccm Traubenzuckerlösung 10 Proz.		0,1 ccm Traubenzuckerlösung 1 Proz.		0,2 ccm Oxalsäure $^1/_{800}$		0,2 ccm Oxalsäure $^1/_{6400}$	
			I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.
$^1/_{8000}$	0,40	—	+	—	23 K.	—	—	—	—	—
	0,20	—	+++	—	1 K.	—	—	—	—	—
	0,10	—	+++	6 K.	—	—	—	—	9 K.	—
$^1/_{64000}$	0,40	1 K.	+++	4 K.	—	—	—	—	31 K.	1 K.
	0,20	26 K.	+++	80 K.	+++	++	—	—	80 K.	—
	0,10	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	+++	31 K.
0 (Kontr.)		+++	+++		+++		1 K.		+++	

Bemerkungen: In der stärkeren Traubenzuckerreihe ist ausgesprochene Schutzwirkung und die versagende Heilwirkung festzustellen. In der schwächeren Oxalsäurereihe ist verstärkte Wirkung des $KMnO_4$ im letzten Röhrchen des Heilversuchs zu sehen. Bei stärkerem Oxalsäurezusatz ist eine Schutzwirkung des $KMnO_4$ nicht sichtbar.

Etwas abweichende Verhältnisse fanden wir beim KJO_4, dessen Desinfektionswirkung wohl auch auf Oxydationsvorgängen beruhen dürfte. Hier unterschied sich die Wirksamkeit der Antidota [KCN sowie $(NH_4)_2S$] im Schutz- und Heilversuch kaum voneinander (allerdings nach Ablauf von nur 16 Minuten — ob auch bei längerer Einwirkung des KJO_4?).

Schon diese spärlichen und noch wenig variierten Versuche zeigen, daß hier eine große Mannigfaltigkeit von Mechanismen vorliegt, die eine streng individuelle Behandlung der Einzelkombinationen nötig er-

Tabelle XLII.

Versuchsanordnung wie in Tabelle XLI. Aussaat nach $4^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur.

$KMnO_4$-Lösung		Zusatz: 0 (Kontrolle)	0,5 ccm $(NH_4)_2S$ 2-proz. Lösung I	0,5 ccm $(NH_4)_2S$ 2-proz. Lösung II	0,5 ccm $(NH_4)_2S$ 2-prom. Lösung I	0,5 ccm $(NH_4)_2S$ 2-prom. Lösung II	0,5 ccm $(NH_4)_2S$ 0,2-prom. Lösung I	0,5 ccm $(NH_4)_2S$ 0,2-prom. Lösung II	0,5 ccm Aceton 5-proz. Lösung I	0,5 ccm Aceton 5-proz. Lösung II	0,5 ccm Aceton 2-proz. Lösung I	0,5 ccm Aceton 2-proz. Lösung II	0,5 ccm Aceton 0,8-proz. Lösung I	0,5 ccm Aceton 0,8-proz. Lösung II
$^1/_{8000}$	0,40	1 K.	+++	4 K.	+++	–	+++	40 K.	1 K.	–	+++	1 K.	–	3 K.
	0,20	–	+++	3 K.	+++	–	++	–	--	–	+++	–	+++	4 K.
	0,10	–	+++	17 K.	+++	+	+++	–	–	–	+++	–	+++	37 K.
$^1/_{64\,000}$	0,40	–	+++	9 K.	+++	28 K.	+++	15 K.	–	–	+	–	+++	56 K.
	0,20	+++	+++	–	+++	15 K.	+++	42 K.	–	–	34 K.	–	+++	100 K.
	0,10	+++	+++	1 K.	+++	++	+++	+	–	–	50 K.	–	+++	+++
0 (Kontrolle)		+++	+++		+++		+++		–		4 K.		+++	

Bemerkungen: Beim $(NH_4)_2S$ ist in der stärksten Konzentration im Heilversuch die Steigerung der $KMnO_4$-Wirkung in den zwei letzten Proben unverkennbar, ebenso in den schwächeren Konzentrationen in den vorletzten Proben. Die keimtötende Wirkung beim 2,5 Proz. Aceton wird vom $KMnO_4$ nicht aufgehoben, wohl aber im Schutzversuch bei 1 Proz. Aceton und stärkeren $KMnO_4$-Dosen. Bei 0,4 Proz. Aceton ist im Heilversuch in der vorletzten Probe Steigerung bemerkbar. Zu beachten wären hier die kleinen Unregelmäßigkeiten im Verlauf der Reihen, die beim $KMnO_4$ leicht durch minimale organische Verunreinigungen der Proben (Staub, Reagenzgläser) zustande kommen können.

Tabelle XLIII.

Versuchsanordnung wie in Tabelle XLI. Aussaat nach 4 Stunden bei Zimmertemperatur. Feststellung der Resultate nach 84 Stunden bei 37 ° C.

KJO_4-Lösung		Zusatz: 0 (Kontr.)	0,5 ccm KCN 2-prom. Lösung I	0,5 ccm KCN 2-prom. Lösung II	0,5 ccm KCN 0,2-prom. Lös. I	0,5 ccm KCN 0,2-prom. Lös. II	0,5 ccm $(NH_4)_2S$ 2-prom. Lös. I	0,5 ccm $(NH_4)_2S$ 2-prom. Lös. II	0,5 ccm $(NH_4)_2S$ 2-prom. Lös. I	0,5 ccm $(NH_4)_2S$ 2-prom. Lös. II	0,5 ccm $(NH_4)_2S$ 0,2-prom. Lös. I	0,5 ccm $(NH_4)_2S$ 0,2-prom. Lös. II
$^1/_{800}$	0,40	–	2 K.	21 K.	–	–	+++	7 K.	+++	+++	–	–
	0,20	1 K.	++	++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	12 K.
	0,10	–	++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++
$^1/_{8400}$	0,40	–	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++
	0,20	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	0,10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0 (Kontr.)		+++	+++		+++		+++		+++		+++	

scheinen läßt. Es ergibt sich auch daraus, daß das schematisch aufgestellte und oft auch ebenso angewandte Postulat einer Coupierung der Desinfektionswirkung im Moment der Aussaat nicht leicht zu erfüllen ist und für jeden besonderen Fall erst untersucht werden muß, inwiefern es überhaupt zulässig ist. Durch diese Coupierung will man ja der Möglichkeit vorbeugen, daß innerhalb der wirklichen Wirksamkeitsgrenze des Antiseptikums Abtötungserfolge durch Hemmungswirkungen vorgetäuscht werden. Nun sehen wir aber, daß gerade in dieser Zone oft der nach-

trägliche Zusatz des Antidots im Heilversuch die Desinfektionswirkung steigern kann, anstatt sie herabzusetzen — eine Komplikation, die zu großer Vorsicht bei der Verwendung derartiger Maßnahmen ermahnt.

Diese Erwägungen, ebenso wie die oben besprochenen großen Verschiedenheiten im Mechanismus der Aufnahme diverser Desinfizientien weisen nochmals mit Nachdruck auf die in der Desinfektionslehre immer wiederkehrende Erkenntnis hin, daß jedes Desinfiziens eine besondere Individualität darstellt, die individuell studiert und ebenso auch praktisch gehandhabt werden will. Natürlich wird es sich auch empfehlen, die hier mitgeteilten Untersuchungen auch auf andere Bakterienarten auszudehnen, um die auch hier zweifellos vorhandenen Individualitäten zu erkennen, zu klassifizieren und darauf auch eventuell die Methoden der Desinfektionspraxis zu stützen.

Schlußsätze.

1) Verschiedene Neutralsalze wirken in höheren, je nach dem Salz verschiedenen Konzentrationen abtötend auf Bakterien. Es scheinen dabei nicht nur osmotische, sondern auch sogenannte Neutralsalz(Ionen-) Wirkungen im Spiel zu sein.

2) Verschiedene lipoidlösliche Antiseptika (Alkohol, Aceton, Aether, Phenol, o-Kreosol, Natriumsalizylat, Natriumoleat, Natriumglykocholat, Chloralhydrat, Anilin, Pyridin, $CHCl_3$, Ameisensäure) werden durch Zusatz konzentrierterer Neutralsalzlösungen in ihrer antiseptischen Wirksamkeit gesteigert, und zwar meist nach Maß der antiseptischen Eigenwirkung der betreffenden Salze.

3) Diese Steigerung beruht zum Teil auf Beeinflussung der Verteilungskoëffizienten der betreffenden Desinfizientien, zum Teil auf Addition der Eigenwirkung der Salze zu derjenigen der Antiseptika, zum Teil vielleicht auch auf einer durch die Salze bewirkten Aenderung der Permeabilitätsverhältnisse der Plasmahaut.

4) Eine Hemmung der Desinfektionswirkung durch Neutralsalze wird beobachtet bei $HgCl_2$, $KMnO_4$, Harnstoff.

5) Den Neutralsalzen analog verhält sich in synergetischen und antagonistischen Versuchen Natriumglyzerophosphat, während Traubenzucker meist hemmend wirkt.

6) Die oben erwähnten lipoidlöslichen Desinfizientien, außerdem $HgCl_2$, Alkalien und alkalische Salze verstärken meist ihre Wirkungen, wenn sie untereinander im synergetischen Versuch kombiniert werden und sind für diese Steigerung dieselben Momente zur Erklärung heranzuziehen, wie oben für die Neutralsalzsteigerung.

7) Beim Alkohol, Phenol, Harnstoff, Anilin, Formaldehyd ist innerhalb ziemlich weiter Grenzen die abzutötende Bakterienmenge für den Desinfektionserfolg von untergeordneter Bedeutung; maßgebend ist hier die Konzentration des Desinficiens.

8) Beim Aceton, $HgCl_2$ und $KMnO_4$ wächst mit der zu desinfizierenden Bakterienmenge der wirksame Grenzwert ziemlich bedeutend, wenn auch nicht ganz parallel.

9) Diese Erscheinung ist nur schwach ausgeprägt bei einer Zwischengruppe, die HCl, H_2SO_4, Oxalsäure, HCO_2H, KOH, KCN, KJO_4, LiBr, $CHCl_3$, Chinin — HCl umfaßt.

10) Bei den Stoffen der ersten Gruppe ist Aufnahme durch Absorption oder reversible Adsorption mit nicht zu starker Begünstigung der Bakterienphase anzunehmen, während bei der zweiten in den wirksamen Grenzverdünnungen fast das ganze Desinficiens von den Bakterien verankert wird; die Zwischengruppe dürfte eine Aufnahme mit relativ starker Begünstigung der Bakterienphase aufweisen.

11) Die Bindung des Phenols an die Bakterienzelle ist ein reversibler, diejenige der $HgCl_2$ und $KMnO_4$ ein teilweise irreversibler Vorgang.

12) Die nachträgliche Unschädlichmachung der überschüssigen Desinficiens bei Desinfektionsversuchen stößt auf theoretische Bedenken, wegen der Reversibilität der Bindung der Desinfizientien.

13) In Heilversuchen sind die Antidota der Desinfizientien meist weniger wirksam, als in Schutzversuchen, manchmal wird sogar durch nachträglichen Zusatz des Antidots die Desinfektionswirkung verstärkt.

Literatur.

(Soweit nicht bereits bei Eisenberg zitiert.)

Bechhold, H., Die Kolloide in Biologie und Medizin. Dresden 1912.
— u. Ziegler, zitiert bei Bechhold.
Beckmann, W., diese Zeitschr. Bd. 20. p. 577.
Beyer, A., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 70.
Breslauer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 20. p. 165—197.
Chick, H., Journ. of Hyg. Vol. 8. p. 92—158.
Eisenberg, Ph., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 69.
v. Eisler, M., diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 51. p. 546.
Ficker, M., Arch. f. Hyg. Bd. 69. p. 54—70.
Fischer, A., zitiert bei Benecke, Bau und Leben der Bakterien. Leipzig 1912. p. 83.
Geppert, Berlin. klin. Wochenschr. No. 36. 37.
Ikeda, Nachtrag zu Krönig u. Paul.
Krönig u. Paul, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25. p. 1—112.
Küster u. Bojakowsky, Desinfektion. Bd. 5. p. 193—217.
— — diese Zeitschr. Abt. I. Ref. Bd. 54. Beilage. p. 135—140.
Laubenheimer, K., Phenol und seine Derivate als Desinfektionsmittel. 1910.
Lipman, C. B., zitiert bei Benecke, p. 286.
Madsen, Th., u. Nyman, M., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 57. p. 388—404.
Meyer, E., Versuche zur quantitativen Auswertung der keimtötenden Kraft von Phenol mit Hilfe abgemessener Bakterienaufschwemmungen. [Inaug.-Diss.] Freiburg i. Br. 1911.
Osterhout, W. J. V., zitiert bei Bechhold, p. 221.
Paul, Birstein u. Reuss, Biochem. Zeitschr. Bd. 25. p. 367.
Regenstein, H., [Inaug.-Diss.]. Breslau 1912.
Reichel, H., Biochem. Zeitschr. Bd. 22. p. 149—231.
Reichenbach, H., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 69. p. 171—222.

Reymann u. Nyman, diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 58. p. 339—354.
Römer, C., München. med. Wochenschr. 1898. p. 298—303.
Scheurlen, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak. Bd. 37. p. 74.
— u. Spiro, München. med. Wochenschr. 1897. p. 81—84.
Scholtz u. Gelarie, Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. 101. p. 1—24.
Spiro, zitiert bei Reichel.
— u. Bruns, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak. Bd. 41. p. 355.
Weyland, diese Zeitschr. Abt. I. Bd. 21. p. 798.
v. Wunschheim, Wien. klin. Wochenschr. 1900. No. 30.
— Arch. f. Hyg. Bd. 39. p. 101—141.

Nachdruck verboten.

The use of a modified Hesse's medium for isolating the Typhoid Bacillus and the Cholera Spirillum from stools[1]).

[The Bacteriological Labaratory of the State and City Boards of Health, Baltimore, Md.]

By Dr. **Wm. Royal Stokes** and Dr. **Frank W. Hachtel.**

The use of differential media for the isolation of pathogenic intestinal bacteria from the feces has already been successfully applied in the detection of typhoid bacilli, but the most recent technique for the isolation of the Spirillum of Asiatic cholera recommends a smear-culture on plain agar. The following brief preliminary report is made, therefore, in order to record certain observations concerning a differential color test for colonies of the typhoid and paratyphoid bacillus, an the spirillum of Asiatic cholera. This method has been already described previously by Stokes and Hachtel[2]) as a modification of Hesse's semi-solid agar, and this medium is prepared in the following manner:

The formula of the medium is as follows:

Agar (dried at 105 C. for half an hour)	5,5 g
Liebig's extract of beef	5 „
Peptone (Witte)	10 „
Lactose	10 „
Glycerin	50 „
Sodium chlorid	8,5 „
Distilled water	1000 c. c.

Before using, the agar should be dried at 105° C for half an hour to free it from from all moisture. This medium should be kept in an ice-chest, the air of which is artificially provided with moisture.

The agar is dissolved in 500 c. c., of distilled water by heating and the loss of evaporation is made up. The beef extract is added to remaining 500 c. c., dissolved by heating, filtered into a sterile flask, and inoculated with the colon bacillus, and then incubated at 37° C for twenty-four hours. This is for the purpose of reducing and removing all of the muscle-sugar from the medium, so that any organisms acting on muscle-sugar shall not confuse the reaction by producing acid colonies. The sugar-free bouillon is filtered after the incubation, and the peptone,

1) Read before the Laboratory Section. American Public Health Association, Havana, Cuba, December 1911.

2) Stokes and Hachtel, Arch. of Int. Med. Vol. 6, 1910, p. 121.

lactose and salt are next dissolved in this fluid, and the loss of the evaporation is made up by the addition of distilled water. The two solutions are then mixed and boiled for thirty minutes, the loss of weight being again made up by further addition of distilled water. It is next filtered, the reaction corrected to a neutral reaction and the 50 c. c. of glycerin added; it is then colored with a solution of Kahlbaum's azolitmim, and 10 c. c. are placed in each test tube. It is then autoclaved at 16 pounds pressure for twenty minutes, and stored in the ice-box. It is necessary to place tightly fitting rubber caps over these tubes in order to prevent evaporation.

When the bile culture from a typhoid suspect is received at the laboratory it is incubated for twenty-four hours, and a series of dilutions from the incubated bile is then made in the following way; One loopful of the incubated bile is transferred into a water blank, which is shaken and one loopful from this water blank is transferred into a second water blank. A series of eight dilutions is then made in the melted Hesse medium cooled to 40° C., and the medium from each tube is then poured into a separate plate. The plates are then incubated for twenty-four hours, and if the typhoid bacillus or paratyphoid bacilus is present, the colonies will appear as medium sized, with concentric rings, and will show a distinct pink color. This color reaction enables one to distinguish between the Bacillus typhosus and the Bacillus alcaligenes. We have found this medium of great service in detecting the presence of typhoid bacilli in stools, and when suspicious colonies are obtained a small quantity is mixed with a proper dilution of an immune serum or of a positive typhoid blood. If agglutination takes place, the diagnosis is confirmed by a study of the cultural characteristics.

The previously quoted article described the detection of the typhoid bacillus by means of this medium from drinking water obtained from surface rivers and a well, from sewage, and clinical and "carrier" cases of typhoid infection; and since that time we have continued to use this medium successfully in detecting the presence of the typhoid and paratyphoid bacillus in feces, urine and blood.

We have also obtained the typhoid bacillus from a sewage-polluted stream which contained oyster-beds, and as this condition existed in a community in which two distinct outbreaks of typhoid had occurred, a brief description of the circumstances pertaining to these outbreaks will be offered.

One of these outbreaks gave a record of 35 cases of typhoid fever in a town of about 1500 persons, many of them living in houses on the banks of the stream in which the polluted oyster-bed was situated. About the same time an outbreak occurred in a large institution partially bordering on this stream, and in a population of about 700 persons, 30 cases of typhoid fever developed. It is not known, however, whether any of she patients obtained oysters from these infected oyster-beds.

The bacteriological examination of the water and oysters from this bar gave the following result: Samples taken from the bar consisted of ten oysters, taken at the depth of 2 feet; and one bacteriological sample of water taken at a depth of 3 feet.

Oysters: The number of bacteria in 1 cubic centimeter of juice taken from each oyster was 1800, 1800, 2100, 2400, 2100, 2400, 3000,

1800, 2100 and 2400, respectively; an average of 2190 bacteria per cubic centimeter of juice for each oyster. Presumptive tests for colon or intestinal bacteria were positive for all ten oysters, and the colon bacillus was isolated from all samples.

Water: The sample of water collected from this bar contained 1800 bacteria per cubic centimeter. The colon bacillus was found in both one and ten cubic centimeter of the water. An examination of this water for Bacillus typhosus revealed the presence of a bacillus having all the morphological, biological and serological properties of this organism.

The typhoid colonies were recognized by their typical, large concentrically arranged, pink apearance, and were easily distinguished from the smaller, moist, concentrated colon colonies.

It later occurred to us to test the color reaction of the various spirilla upon this same medium, and we found that the Spirillum of cholerae and the Nassik Spirillum could be distinguished from the bacilli of the typhoid group by the fact that these spirilla formed a blue colony on our modified medium, due to the alkaline reaction produced. These colonies appeared in twenty-four hours as large, bluish, concentric colonies with an opaque, nucleus-like centre, and varied in diameter from 5 to 15 millimeters.

We also made a few tests with these two spirilla, using other differential media for this purpose. Smear cultures were made over Endo's medium, and after eighteen hours in the incubator the cholera spirillum appeared as small, pale, gray, translucent, moist colonies with a fine, pin-point red centre and had an average diameter of 1 millimeter. After forty-two hours incubation the entire colony waz pale pink in color, and had an average diameter of 2 millimeters. On microscopic examination the edges were undulate, with a narrow, decolorized, peripheral zone, which was barely apparent to the naked eye. The Nassik spirillum after 18 hours incubation on Endo's medium formed a pale, gray, translucent, moist colony resembling the typhoid colony incubated for the same length of time. After 42 hours incubation the colony resembled the 18 hour colony of the cholera spirillum.

These experiments failed to disclose anything very characteristic about the appearance of these spirilla either on our semi-fluid lactose-glycerin-litmus agar or on Endo's medium. By the use of our modified Hesse's medium the Spirillum cholerae can, of course, be differentiated from the Bacillus coli and the Bacillus typhosus by the color reaction. Other organisms such as the Bacillus alcaligenes, Bacillus proteus, Bacillus fluorescens, Bacillus fluorescens liquefaciens, and the Bacillus pyocyaneus, however, appear as blue colonies on this medium.

It next occurred to one of us that, since the cholera spirillum produces an amylolytic or starch-splitting enzyme and the colon bacillus does not, starch might prove useful in the isolation of the cholera spirillum from the stools of carriers. We then experimented with starch agar in two forms: one a 3 per cent. starch-litmus agar for smear cultures, the other a semi-fluid starch-litmus agar. This latter was made according to the directions given by us in the first part of this article for Hesse's medium save that the glycerin and lactose were omitted and 10 grams of starch were added and the reaction was corrected as before so as to be neutral to phenolphthalein. The meat sugar was, of course, removed by a preliminary incoulation of the broth with the colon bacillus.

The solid medium proved a failure as the cholera colonies could not be distinguished from those of the colon bacillus, both being moist, pale, blue and translucent.

When inoculated, in the semi-fluid starch-litmus agar the Spirillum cholerae gave round, spreading colonies without concentric rings, and were pink in color. These colonies measured from 2 to 5 mm in diameter.

The Nassik spirillum on this same medium resembled the cholera spirillum, as did also the Spirillum of Finkler-Prior and the Spirillum metchnikovi.

The typhoid bacillus gave round, spreading, pale blue colonies with the typical concentric zones. These colonies measured from 3 to 10 mm in diameter. The colonies of the Bacillus alcaligenes resembled closely those of the Bacillus typhosus.

We have studied the appearance of both the Bacillus dysenteriae (Shiga) and the Bacillus dysenteriae (Harris). Both of these organisms showed small, blue surface colonies and deep pin-point colonies of neutral reaction.

The Bacillus cholerae suis and the Bacillus enteriditis fermed round, blue, spreading colonies without concentric rings; the diameter of these colonies ranged from 2 to 10 mm. The Bacillus coli and the Bacillus cummunior formed circular, blue, spreading colonies which varied in diameter from 2 to 10 mm.

The Bacillus proteus, the Bacillus cloacae, and the Bacillus gasoformans presented round, spreading, blue colonies with a diameter of from 2 to 8 mm. The odor of the Bacillus proteus was distinctly sharp and ammoniacal. The Bacillus proteus fluorescens gave moist, blue, circular colonies of from 2 to 3 mm in diameter.

The Bacillus capsulatus (Friedländer), the Bacillus lactis aerogenes, and the Bacillus acidi lactici, all gave small, blue, non-spreading colonies.

The Bacillus pyocyaneus formed round, spreading, blue, colonies with concentric zones; these colonies ranged in diameter from 2 to 10 mm.

The Bacillus subtilis formed very large, round, blue, spreading colonies without concentric zones.

Conclusions.

We believe that the use of semi-solid agar according to the methods described above will distinguish the typhoid and paratyphoid bacillus and other motile intestinal organisms by means of the characteristic pink color of the former colonies. The colon bacillus is occasionally motile and resembles the typhoid colony, and these colonies can only be surely distinguished by using agglutinative typhoid serum. The use of starch instead of lactose and glycerin in the semi-solid medium produces a characteristic color reaction for the intestinal spirilla. These spirilla split up the starch and produce an acid reaction of the medium. We intend to continue our experiments, but suggest the use of these semi-solid media at this time as a step towards securing characteristic color tests for colonies of the intestinal pathogenic organisms.

Nachdruck verboten.

Tuberkelbacillen innerhalb der Eiterzellen tuberkulöser Sputa.

[Institut für Hygiene der Königl. Universität Parma (Direktor: Prof. Ernesto Bertarelli).]

Von Dr. **Fabrizio Maffi.**

Mit 1 Tafel.

Ganz selten werden Tuberkelbacillen in den Eiterzellenkörpern aufgefunden. In einer Menge von Untersuchungen Hunderter tuberkulöser Sputa war es mir nie gelungen, endocelluläre Bacillen persönlich wahrzunehmen, obwohl die Untersuchungen zu anderen Zwecken immerfort mit größter Genauigkeit vorgenommen worden waren.

Ich hatte diese Gelegenheit im letzten Juni bei der Untersuchung des Auswurfs eines gewissen S. V. in der Tuberkulösenabteilung des Stadtspitals von Parma, und dachte dabei an das, was Löwenstein in der Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten 1906 erwähnt hatte.

Die Tuberkelbacillen waren in großer Menge vorhanden, so daß sie in allen möglichen Verbindungen mit den Sputumelementen sich fanden. Ich bemerkte die Anhäufung der Bacillen in der Nähe und auf der Projektion der Eiterzellen, die ganz damit durchdrungen oder umgeben erschienen, während die Bacillen nest-, pinsel- oder bündelartige Bildungen aufwiesen.

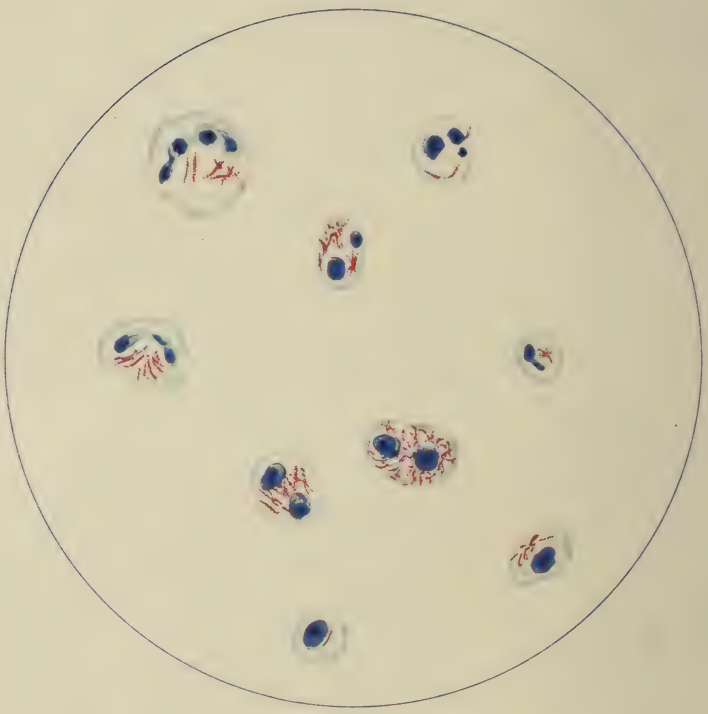
Da die Möglichkeit bestand, daß diese Bacillen außerhalb der Zellen und deshalb peri- oder epicellulär wären, suchte ich solche Präparatfelder ab, wo nur wenige freiliegende Bacillen zu sehen waren, und überzeugte mich, daß es sich um wirklich endocelluläre Bacillen handelte.

Die Beschreibung, die ich davon geben kann, ist durchaus mit der von Löwenstein übereinstimmend. Immerhin muß ich aber bemerken, daß die intracellulären Tuberkelbacillen sich der Form der Eiterzellen nähern; sie liegen manchmal senkrecht dem Zellkern gegenüber, während sie häufig dem äußeren Rande der Zelle oder des Kernes folgen. Diese Bacillen sind gewöhnlich kürzer, dünner und zerstückelter als die freiliegenden Bacillen in demselben Präparate. Sie ähneln oft den geradlinigen nicht mehr und bilden häufig um den Zellkern ein wahres Netz.

Wo viele Eiterelemente von den Bacillen besetzt sind, werden gewöhnlich nur wenige frei aufgefunden. Mehrere Mikroskopfelder wiesen keine der letzteren auf; die Polynukleären waren allein so besetzt und damit durchdrungen.

Was die Bedeutung dieses Zustandes anbetrifft, so sagt Löwenstein, daß er öfters bei Patienten vorkomme, die alte Kochsche Tuberkulinkuren bestanden haben und auf dem Wege der Genesung sind.

Obwohl man der Phagocytose im allgemeinen die Bedeutung einer Abwehr beimißt, hat die Häufigkeit, mit welcher man eine gewisse Wirksamkeit der Phagocytose mit dem ungünstigen Gange der Krankheit verbindet, mich veranlaßt, weitere Beobachtungen anzustellen.



Verlag von Gustav Fischer in

Ich bin nun imstande, zu sagen, daß von 10 mit Tuberkulin behandelten Fällen keiner die intracellulären Bacillen aufwies, obwohl sie alle günstig verliefen, ich kann aber hinzufügen, daß in einem Falle, von welchem ich aber noch nicht genaue Nachrichten besitze, die intracellulären Bacillen nur einmal vorgefunden wurden und innerhalb einer Woche verschwanden.

Der Kranke, von dem die Sputa des letzten Juni stammen, wies folgendes klinisches Bild auf:

Alte Tuberkulose mit geringen auskultatorischen Erscheinungen, obwohl die KB. in großer Menge vorhanden waren. Begrenzter ulzeröser Herd innerhalb einer doppelseitigen sklerösen Form. Allgemeinbefinden nicht schlecht. Temp. nur selten bis 37,5° steigend.

Vor einigen Jahren syphilitische Infektion.

Zur Zeit der Untersuchung war der Patient mit dem sogenannten modifizierten Tuberkulin (Dr. F.) während 2 Monaten behandelt worden; er hatte auch eine Kur mit Bruschettini-Serum begonnen, aber sie wieder aufgegeben.

Seit 1 Monat war der Zustand des Patienten verschlechtert und reichliches feuchtes Rasseln am rechten oberen Lungenlappen wurde bemerkbar.

Pat. verließ das Krankenhaus, und es ist mir nicht möglich gewesen, weiteres über ihn zu erfahren.

1. Nov. 1912.

Nachtrag.

Im Auswurfe eines anderen Tuberkulösen fand ich am 23. Dez. 1912 folgendes: KB. von verschiedenen Formen, fast alle zerstückelt oder granuliert. Sie sind fast ausschließlich in einigen mono- oder polynukleären Eiterzellen lokalisiert. Auffallend ist ihre ein- oder doppelnestförmige Lage in der Eiterzelle. Selten sind freiliegende Bacillen, in jedem Präparate nicht mehr als 5.

Die Sputa stammen von einem Kranken mit Höhlentuberkulose der linken Seite von großer Ausdehnung und mit Verwachsung des Rippenfelles, fibro-ulzeröser Tuberkulose der rechten Lungenspitze, Temp. von 37,3—38,3°, gutem Allgemeinbefinden und ununterbrochener Besserung in den letzten 5 Monaten nach einer traurigen Periode zwischen Mai-Juni 1912.

Der Kranke hat niemals Tuberkulinkuren unternommen.

Tafelerklärung.

Verschiedene Lagen und Gruppierungen von KB. innerhalb der mono- und polynukleären Eiterzellen tuberkulöser Sputa.

Inhalt.

Berdnikow, A. I., Einige neue Ergebnisse über die Epidemiologie der Pest. Untersuchungen der Nagetiere der Astrachanschen Steppe, p. 251.

Cominotti, L., Ueber Sarkosporidin, p. 264.

Eisenberg, Philipp u. **Okolska, Marie**, Untersuchungen zur Theorie der Desinfektion, p. 312.

Hadley, Philip B., Studies on fowl cholera; II. Active immunity in rabbits, p. 271.

Maffi, Fabrizio, Tuberkelbacillen innerhalb der Eiterzellen tuberkulöser Sputa, p. 350.

Pfeiler, W. u. **Kapfberger, G.**, Ueber die künstliche Uebertragung der Tollwut mit besonderer Berücksichtigung der Infektion der vorderen Augenkammer, p. 260.

Raubitschek, Hugo u. **Natonek, Desider**, Ueber Unterschiede in den biologischen Eigenschaften der Typhusbacillen, p. 241.

Stokes, Wm. Royal and **Hachtel, Frank W.**, The use of a modified Hesse's medium for isolating the Typhoid Bacillus and the Cholera Spirillum from stools, p. 346.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 69. Heft 5|6.
Ausgegeben am 21. Juni 1913.

Nachdruck verboten.

Erfahrungen bei einigen in das Hamburger Staatsgebiet eingeschleppten Fällen von menschlicher Pesterkrankung.

[Aus der Quarantäneanstalt zu Groden (Leiter: Hafenarzt Dr. Sannemann) und aus dem Hygienischen Institut (Direktor: Prof. Dr. Dunbar) der Freien und Hansestadt Hamburg.]

Von Dr. **Aumann.**
Stabsarzt an der Kaiser Wilhelms-Akademie, früher kommandiert zum Institut.

Mit 5 Textfiguren.

1. Allgemeiner Teil.

Die schwierigste Aufgabe bei Erfüllung der für eine wirksame Seuchenbekämpfung, insonderheit der Pest, als Grundsätze aufgestellten Forderungen fällt unbestrittenermaßen dem Kliniker zu. In seine Hand gelangen in der Regel zuerst die beim Beginn einer Reihe von Erkrankungen noch unausgebildeten, unreinen oder sonstwie unklaren Fälle, und auf seinen Schultern ruht die Verantwortung, frühzeitig die schwerwiegende Diagnose „Pestverdacht" zu äußern. Die Erkennung der ersten Fälle, ohne die eine Abwehr einer weiteren Pestausbreitung nur schwer denkbar ist, ist seine Aufgabe, so daß die Aerzte — vor allem in den zurzeit vornehmlich bedrohten Hafenstädten — nicht nur mit den wesentlichen Erscheinungen der Pest vertraut sein müssen, sondern sie müssen gerade die leichten Fälle, die so häufig einer Epidemie vorausgehen und gewöhnlich nur durch Zufall entdeckt werden, durch richtige Beurteilung des Krankheitsbildes frühzeitig der Diagnose zuführen können.

Erst dann kann der Bakteriologe in seine Rechte treten, und der auf der fünfzehnten Versammlung des deutschen Vereins für öffentliche Gesundheitspflege 1900 aufgestellte Grundsatz 4: „Je früher die stattgehabte Einschleppung der Pest an einem Orte bakteriologisch festgestellt wird, um so sicherer wird es gelingen, die Epidemie im Keime zu ersticken" gewinnt nun Gültigkeit.

Auf Grund dieser kurzen Darlegungen braucht wohl nicht weiter erörtert zu werden, daß die in Deutschland eingeschleppten Fälle hohes Interesse verdienen, eine umfassende wissenschaftliche Bearbeitung in jeglicher Hinsicht erfahren müssen und dann auch der Allgemeinheit zugänglich gemacht werden sollen.

Ein kurzer Ueberblick über die bisher in Deutschland zur Beobachtung gelangten Pesterkrankungen, soweit sie auf Schiffen, die den Hamburger Hafen überhaupt angelaufen haben, auftraten, darf wohl nicht ohne Interesse sein.

Ich brauche wohl nicht erst zu betonen, daß die Ansteckungsquellen für sämtliche Schiffe, die, alle aus Häfen des La Plata kommend, Hamburg anliefen, außerhalb der Grenzen Deutschlands lagen.

Der erste, bakteriologisch sichergestellte Fall von menschlicher Pest wurde im Jahre 1900 eingeschleppt [1]).

1) Med. Statist. d. hamb. Staates f. 1900. p. 87.

Im gleichen Jahre kam in Bremen ein Fall[1]) zur Beobachtung auf einem Schiff, das auf der Route Argentinien—Hamburg—Bremen gelaufen war.

Zwei weitere Fälle[2]) traten in den Jahren 1904 und 1905 auf je einem Schiff auf, das, von Südamerika kommend, den Hamburger Hafen anlief und nach England ging. Die Erkrankungen traten in beiden Fällen gleich wie in dem vorigen erst nach Verlassen des Hamburger Hafens auf.

Schließlich hat ein im Jahr 1907 festgestellter Fall von Bubonenpest eine ausführliche wissenschaftliche Bearbeitung durch Trautmann und Lorey erfahren[3]).

Nach einem mehr als fünfjährigen Zwischenraume sind dann im September 1912 in den Hamburger Hafen einige Pesterkrankungen eingeschleppt worden, die im nachstehenden zur Darstellung gelangen sollen.

Zunächst mögen die Ermittelungen der Hamburger hafenärztlichen Behörde folgen, soweit sie sich auf Herkunft, Besatzung und Reiseverlauf beziehen.

Der Dampfer „Bellailsa", ein englisches Schiff mit rein englischer Mannschaft hatte Anfang Juli 1912 mit Mais und Weizen als Ladung und einer Besatzung von 38 Mann Rosario (in Argentinien) verlassen. Am 25. August lief er nach einer durch Havarie verlängerten Reise in den Hamburger Hafen ein. Während der Reise waren keine Beobachtungen erhoben worden, die Veranlassung gegeben hätten, dem Schiffe außergewöhnliche Aufmerksamkeit zu schenken; es waren weder Erkrankungen bei der Besatzung noch auffälliges Rattensterben bemerkt worden.

Die Besatzung wurde bei der Ankunft der vorgeschriebenen hafenärztlichen Untersuchung unterworfen und als gesund befunden; das Schiff, als aus einer pestverdächtigen Gegend kommend, während der Zeit der Entladung mit Gesundheitsaufsehern besetzt, die auf Ratten zu achten hatten. In den Tagen vom 27. August bis 6. September wurden insgesamt 10 Ratten gefunden und dem Hygienischen Institut, das mit den laufenden Pestuntersuchungen betraut ist, eingeliefert. Die Untersuchungen ergaben jedoch keinen Anhalt für Pest.

Am 2. September erkrankte der Schiffsjunge (apprentice) M. akut mit hohem Fieber (40,2) unter den Erscheinungen einer Allgemeininfektion; eine Beteiligung bestimmter Organe war nicht nachweisbar, es bestanden weder Drüsenschwellungen, noch war im Hals und auf den Lungen ein krankhafter Befund zu erheben. Der Leib war gespannt, der Stuhl angehalten. Nach 0,4 Pyramidon war M. am anderen Morgen fieberfrei (36,8) und verspürte keine Beschwerden. Er blieb außer Bett, nahm seine gewohnten Mahlzeiten, rauchte sogar. Auch abends trat keine Aenderung in seinem Befinden ein. Gegen Mitternacht klagte M. über heftige Kopfschmerzen, starke Abgeschlagenheit und Atemnot, und eine halbe Stunde nach Einsetzen dieser Krankheitserscheinungen trat der Tod ein (in der Nacht vom 3. zum 4. Sept.).

Die am nächsten Tage ausgeführte Sektion ergab keine Klarheit über die Todesursache. Das aus dem Herzen entnommene Blut erwies sich als steril.

1) Siehe 1 u. Dtsch. med. Wochenschr. 26. Jahrg. 1900. p. 732.
2) Kossel, Intern. Kongr. f. Hyg. u. Demogr. Bd. 3. 1907. p. 693.
3) Trautmann u. Lorey, Ztschr. f. Hyg. Bd. 60. 1908. p. 1.

Da nach dem klinischen Verlauf wahrscheinlich eine Infektionskrankheit vorlag, wurden Wohnraum und Ausrüstungsstücke des Verstorbenen desinfiziert. Es erfolgte weiterhin täglich eine hafenärztliche Kontrolle der Besatzung, ohne daß bis zur Ausreise des Schiffes am 6. Sept. abends irgendein auffallender Befund erhoben werden konnte.

An dieser Stelle scheinen mir zunächst noch einige Angaben über die Unterkunftsverhältnisse der 4 Schiffsjungen (M., Wh., Ra. u. Ro.) angebracht zu sein. Die betreffenden Räume lagen im Hinterteil des Schiffes und bestanden insgesamt aus 4 Abteilungen. Zwei von diesen waren als Schlafkammern für je zwei der Jungen bestimmt. Zwischen beiden lag der Aufenthaltsraum am Tage, zugleich mit Aufgang, während der vierte Raum auch als Materialienkammer für den Zimmermann diente.

Während des Aufenthalts in Hamburg haben zunächst alle vier Jungen gemeinsam in einer Kammer geschlafen. Am Tage nach der Erkrankung des in Hamburg gestorbenen M. wurden die Schiffsjungen Ra. u. Ro. in die zweite Kammer verlegt, während Wh. bei dem ersterkrankten M. bis zu dessen Tode geweilt und auch später wieder die Kammer benutzt hat.

In der Materialienkammer sollen sehr viel Ratten gewesen sein, wie es sehr leicht erklärlich ist, da die vier Schiffsjungen daselbst außer ihren Ausrüstungsstücken auch Lebensmittel (Brot, Butter usw.) untergebracht hatten.

Am 6. September abends verließ, wie bereits bemerkt, das Schiff den Hamburger Hafen mit der Bestimmung nach der Tyne (England). Am 7. morgens — noch auf der Elbe — meldete sich der Schiffsjunge Wh., der dem Verstorbenen besonders nahe gestanden hatte, krank und wurde, nachdem der Kapitän in Cuxhaven ärztliche Hilfe erbeten hatte, in das Staatskrankenhaus aufgenommen; das Schiff setzte seine Reise nach seinem Bestimmungsort fort.

Ueber den Beginn seiner Erkrankung berichtete Wh., daß er am Abend vorher (6. Sept.) — also 3 Tage nach dem Tode des M. — mit Schüttelfrost, geringem Schwindelgefühl, nicht sehr heftigen Kopfschmerzen und mit Brennen in den Augen erkrankt sei. Erbrechen habe nicht bestanden.

Die ärztliche Untersuchung ergab hohes Fieber (40,2). Der Puls war frequent, 120 und mehr, jedoch kräftig und voll. Irgendein lokaler, krankhafter Befund wurde nicht erhoben. Der Stuhl war angehalten. Auffallend war das starke Durstgefühl.

In den nächsten Tagen entwickelte sich unter anhaltend hohem Fieber in der linken Achselhöhle eine nur leicht druckempfindliche Drüsenschwellung, die am 13. Sept., dem 8. Krankheitstage, nachdem sie inzwischen halbbillardkugelgroß geworden war, zur Gewinnung von Untersuchungsmaterial eröffnet und ausgeräumt wurde.

Noch am gleichen Tage wurde die Verdachtsdiagnose Pest durch die Untersuchung des Eiters und Drüsengewebes im Hygienischen Institut bestätigt und die Ueberführung des Kranken in das Quarantänelazarett Groden angeordnet.

Schon am Tage vorher hatte der Kranke typhusartig deliriert und war sehr unruhig gewesen. Außerdem waren profuse Schweiße aufgetreten.

In der auf die Eröffnung des Bubo folgenden Nacht (13. zum 14. Sept.) bot der Kranke zum ersten Male ein Bild, wie es als typisch für den Beginn einer Pesterkrankung geschildert wird: Er war sehr unruhig,

halluzinierte, sprach vor sich hin, verließ das Bett und ließ sich nicht halten, so daß 2 Personen bei ihm wachen mußten.

II. Klinischer Teil.

Nach der Ueberführung des Kranken in die Quarantäneanstalt Groden wurde mir die weitere Behandlung übertragen, so daß ich in der Lage war, durch gleichzeitige Verfolgung des Krankheitsbildes und experimentelle Untersuchungen ausgiebige Beobachtungen zu erheben.

Ich gebe zunächst einen gedrängten Auszug aus der Krankheitsgeschichte.

14. Sept. Der mittelgroße, kräftig gebaute Kranke, in gutem Ernährungszustande, ist benommen und zeigt große Unruhe, Gesicht cyanotisch, schweißbedeckt. Leichte Druckempfindlichkeit der Nackenmuskulatur. Conjunctiven o. B. Zunge gelblichweiß belegt, Rand frei. Mund- und Rachenschleimhaut o. B.

Herztöne leise, rein. Herzgrenzen regelrecht. Puls 120 bis 130, regelmäßig, ziemlich kräftig, bei guter Füllung des Arterienrohres, keine Dikrotie.

Respirationsorgane o. B.

Der Leib ist etwas aufgetrieben (Meteorismus), Bauchdecken gespannt. Stuhl seit 3 Tagen angehalten. Milz nicht palpabel.

Urin läßt Patient unter sich.

Im vorderen Teil der linken Achselhöhle eine kleinapfelgroße, ziemlich derbe Geschwulst mit geröteter Haut (Bubo I). Das kollaterale Oedem dehnt sich um die Geschwulst herum bis auf die Schulterhöhe aus, so daß Ober- und Unterschlüsselbeingrube völlig verstrichen sind. Aus einer 3 cm langen, klaffenden Inzisionswunde, auf dem Scheitel der Geschwulst von oben nach unten verlaufend, entleert sich blutig-seröse Flüssigkeit.

In der rechten Achselhöhle sowie an Hals und Nacken sind keine Drüsenschwellungen festzustellen.

Auch in der ödematös infiltrierten Gegend der Oberschlüsselbeingrube links, sind weder Drüsenpakete palpabel, noch besteht an dieser Stelle Druckschmerzhaftigkeit.

An den oberen Extremitäten und auf dem Stamm keine Exantheme (Roseolen), auch sind Floh- und andere Insektenstiche nicht aufzufinden.

An beiden unteren Extremitäten beiderseits je 6 bis 8 Roseolen. In der Mitte der linken Schienbeinkante und unterhalb des linken inneren Knöchels je eine kleine Akneeruption.

In den Leistenbeugen keine auffallend vergrößerten oder druckschmerzhaften Drüsen. In den Oberschenkeldreiecken (Fossa ovalis) beiderseits sind gleichfalls keine Drüsen papabel, desgleichen besteht keine Druckempfindlichkeit an diesen Stellen.

Therapie: reichliche, kräftige Kost. Nach Bedarf Digitalis. Champagner. Täglicher Verbandwechsel.

Gegen Mittag Aufhellen des Bewußtseins. Schweißsekretion erheblich geringer. Gesicht rötet sich. Temperatur um 38°.

15. Sept. Hat die Nacht gut geschlafen. Seit gestern Mittag bei Bewußtsein geblieben. Sensorium völlig klar. Fühlt sich scheinbar wohler. Die Eruptionen an den Unterschenkeln machen den Eindruck von bedeutungslosen Follikulitiden.

Nachm. 2 Uhr profuser Schweißausbruch. Temperaturanstieg.

16. Sept. Rechts starke Conjunctivitis. In der vorderen Augenkammer am äußeren Hornhautrande 2 etwa stecknadelkopfgroße Eiterherde.

Die Eiterherde an beiden Unterschenkeln haben etwa ein Pfennigstückgröße erreicht. Eröffnung. (Im mikroskopischen Präparat keine Pestbakterien. Kulturell Pestbakterien.) (Karbunkel α, β, γ.)

In der linken Fossa ovalis eine etwa haselnußgroße Drüse, die auf Druck nur ganz gering schmerzhaft ist.

Mittags 12 Uhr Anstieg der Temperatur auf 40°, Puls 120, kräftig, voll. Starker Schweißausbruch. Cyanose, Nasenflügelatmen.

4 Uhr nachm. Temperatur 40,8, Puls 160.

5 Uhr nachm. 0,3 Salvarsan intravenös (zur Anregung der Antikörperbildung).

$^3/_4$ Stunde später heftiger Schüttelfrost, Puls kräftig, voll.

8 Uhr abends Temperatur 39,0. Der Kranke macht einen durchaus befriedigenden Eindruck. Die Schwellung im linken Oberschenkeldreieck ist etwas größer und vielleicht etwas druckempfindlicher geworden.

17. Sept. Hat die Nacht sehr gut geschlafen. Temperatur auf 37° abgefallen. Keine weiteren Drüsenschwellungen nachweisbar.

Im Laufe des Nachmittags steigt die Temperatur wieder bis auf 40,2.

18. Sept. Das kollaterale Oedem ist besonders unterhalb des Schlüsselbeins ganz erheblich geringer geworden; es tritt dadurch eine etwa walnußgroße Schwellung in der linken Fossa supraclavicularis deutlich hervor. Fluktuation nicht festzustellen, ebenso besteht keine Druckschmerzhaftigkeit (geschwollenes Drüsenpaket, sekundärer Pestbubo?).

Bubo in linker Fossa ovalis zeigt Fluktuation. Breite Eröffnung und Ausräumung. (Mikroskopisch und kulturell Pestbakterien.) (Bubo II).

Am rechten Unterschenkel Eröffnung einer Pustel. (Mikroskopisch keine Pestbakterien, kulturell +.) (Pustel a.)

19. Sept. Die Schwellung oberhalb des linken Schlüsselbeines leicht druckschmerzhaft, keine Drüsenpakete, ebenso keine Fluktuation.

Eröffnung von drei weiteren Pusteln (P. b—d) am rechten Unter- und linken Oberschenkel (mikroskopisch und kulturell keine Pestbakterien). Keine weiteren Drüsenschwellungen.

Conjunctivitis am rechten Auge sehr stark. Eiterherde in der rechten vorderen Augenkammer größer geworden und konfluiert. Atropin. Feuchter Verband.

Nachm. 2 Uhr heftiger Schweißausbruch. Temperatur 39,8 Puls, 128, kräftig voll.

20. Sept. Die Schwellung über dem linken Schlüsselbein zeigt heute vielleicht geringe Fluktuation.

Eröffnung von zwei weiteren Pusteln am rechten Unterschenkel (P. e u. f) (mikroskopisch und kulturell keine Pestbakterien).

21. Sept. Conjunctivitis geringer geworden, Eiterherde in der Augenkammer kleiner geworden.

Fluktuation über dem linken Schlüsselbein heute deutlich. Inzision, dabei reichliche Eiterentleerung, kein eingeschmolzenes Drüsengewebe. Die Abszeßhöhle erstreckt sich mindestens in einer Länge von 4 cm nach unten nach der Mitte des Brustbeins zu. Pulsation des in der Höhe befindlichen Eiters durch die großen Halsgefäße. (Im Eiter keine Pestbakterien, auch nicht kulturell, jedoch Staphyl. alb.) (Bubo III?).

22. Sept. Pusteln größtenteils verheilt. Karbunkel gut gereinigt.

23. Sept. Allgemeinbefinden leidlich. Gute Nahrungsaufnahme.

24. Sept. Hat in der Nacht wenig geschlafen, da starker Meteorismus. Einlauf, danach Besserung.

Aus der Wundhöhle oberhalb des linken Schlüsselbeins sehr reichliche eitrige Sekretion.

25. Sept. 10 Uhr Schüttelfrost. Starke Kopfschmerzen, Cyanose der Nase und Wangen. Oppressionsgefühl in der Herzgegend. Puls 120. Temperatur 39,6. Dauer des Anfalles etwa 20 Minuten. Danach Wohlbefinden.

$8^{3}/_{4}$ heftiger Schüttelfrost, Temperatur 40,9, Puls 160, klein, regelmäßig. Dauer des Anfalles ca. 20 Minuten.

Verbandwechsel bei Bubo III (Prof. Brauer). Der bisher gelblichweiß gefärbte Eiter ist blutig tingiert. (Arrosion eines Blutgefäßes und Thrombosen?) Unterhalb des linken Schlüsselbeines in der Richtung nach der linken Achselhöhle zu jetzt eine etwa eigroße Schwellung, die bei Druck leicht schwappt und knistert. (Durchbruch nach der Pleurahöhle, Emphysem.)

26. Sept. Das eitrige Sekret aus Bubo III reichlich mit Blutcoagulis durchsetzt.

4 Uhr nachm. leichter Schüttelfrost. Temperatur 40,2, Puls 160. Dauer etwa 10 Min. Blutentnahme (Staphyl. alb. +).

Abends 7 Uhr trifft Dr. Stammler (Eppendorfer Krankenhaus) ein, um bei gegebener Indikation einen größeren chirurgischen Eingriff vorzunehmen: Musc. pect. sind unterminiert; der Wundgang von der linken Achselhöhle aus erstreckt sich bis in die Unterschlüsselbeingrube. Unterhalb des Schlüsselbeins eine etwas fluktuierende und knisternde Schwellung. Es wird in der Gegend des Mohrenheimschen Dreiecks eine Inzision gemacht, die die Verbindung mit der Abszeßhöhle Bubo I herstellt. Die Wundhöhle von Bubo III führt bis tief ins Mediastinum, wohin sich der Eiter längs der Gefäße gesenkt hat.

Nach dem Verbandwechsel leichter Schüttelfrost.

27. Sept. Ausspülen der Wunden mit 3-proz. Wasserstoffsuperoxydlösung, feuchte Tamponade. Beim Aufrichten zum Verbandwechsel klagt Wh. über starke Atemnot, wird sehr cyanotisch, Atmung rasselnd. Cyanose und Atemnot gehen bei Hinlegen etwas zurück.

Perkusion der Lungen ergibt deutlichen Schachtelton auf der linken Seite. Die Herzdämpfung ist verschwunden, an ihrer Stelle hohler Schall. Pneumothorax. Herzaktion äußerst frequent. Puls klein und etwas unregelmäßig.

Die bedrohlichen Symptome gehen allmählich zurück; der Kranke schläft bis 4 Uhr nachm.

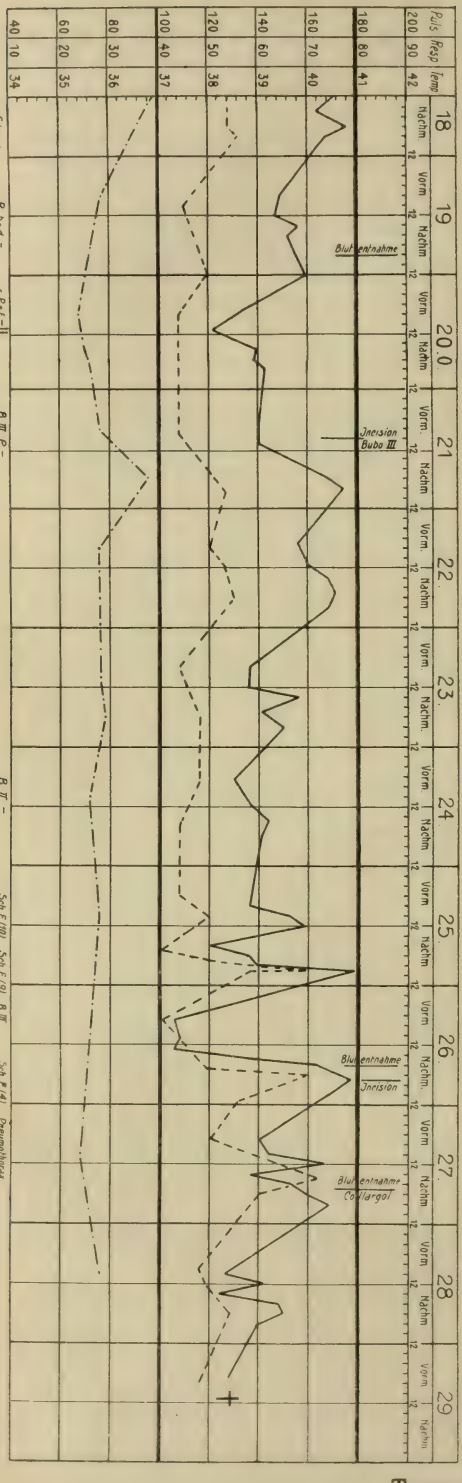
5 Uhr Blutentnahme (kulturell und Tierversuch Staphyl. alb. +). Daran anschließend intravenös 5 ccm Collargol, 5 Proz. Keine Reaktion.

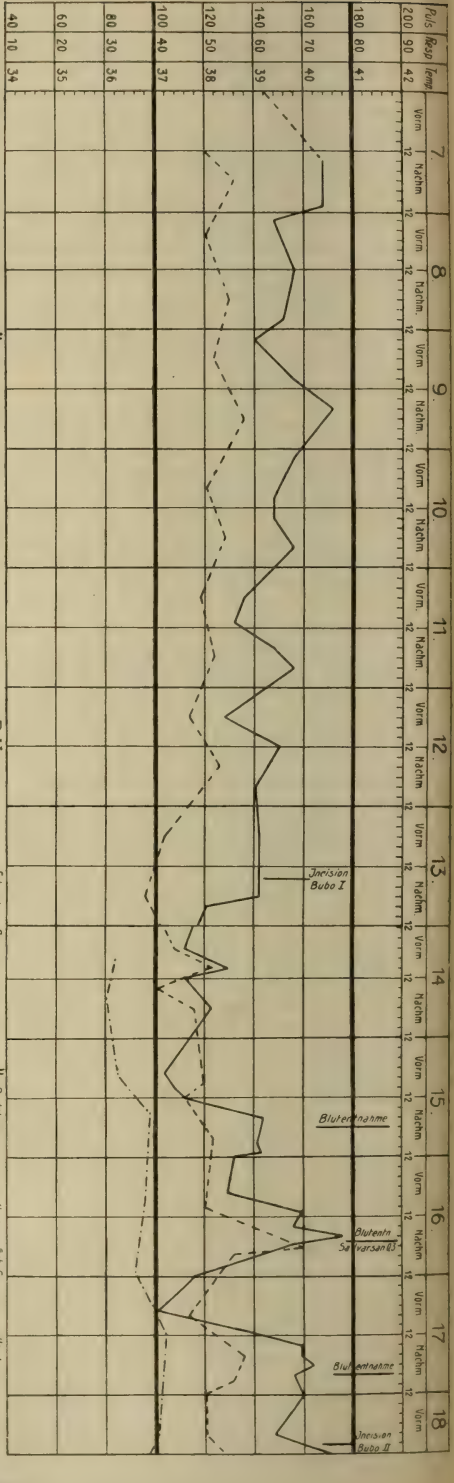
Die Temperatur steigt wieder an. Puls noch frequent. Cyanose mäßigen Grades.

28. Sept. Verbandwechsel. Ausspülen der Wunden mit Wasserstoffsuperoxyd und feuchte Tamponade mit Pferdeserum. (Lorey)[1].

Befinden im Laufe des Tages gut. Patient liest die Zeitung, unterhält sich viel.

1) Lorey, Medizinische Klinik. 1912. No. 26. p. 1069.





Temperaturkurve.

29. Sept. Die Nacht größtenteils geschlafen. Subjektives Wohlbefinden. Beim Verbandwechsel während des Aufrichtens plötzlich starke Cyanose, Atmung mühsam und frequent. Puls klein und flackernd.

Patient erholt sich wieder, um etwa eine Viertelstunde später beim Umbetten einen neuen Anfall zu bekommen. Die Atmung geht rasch in Röcheln über, Puls sehr frequent und immer kleiner. Um 10 Uhr tritt der Tod ein.

Bevor ich in die Besprechung der wichtigsten Fragen, die sich im Laufe der Krankheit ergeben haben, eingehe, will ich nur kurz die Ergebnisse der am 30. Sept. vorm. vorgenommenen Leichenöffnung folgen lassen:

Mittelgroße, männliche Leiche in etwas reduziertem Ernährungszustand. Keine Oedeme und Exantheme.

In der linken Achselhöhle, etwa am unteren Rande des Brustmuskels, etwa eine 3 cm lange Schnittwunde. Eine ähnliche Wunde von etwa 5 cm Länge befindet sich in der unteren Schlüsselbeingrube (Mohrenheimsches Dreieck), in der linken Oberschlüsselbeingrube (2 cm), in der linken Leistengrube (über der Fossa ovalis) (2 cm), an der Vorderseite des linken Unterschenkels und unter dem linken inneren Knöchel. Die drei letzten Wunden führen nur in kleine, etwa $^1/_2$ bis 1 cm tiefe Wundhöhlen, die zum Teil rote Granulationen zeigen. Am rechten Unterschenkel an der Innenseite drei etwa erbsengroße flache Wunden, bedeckt mit Blutschorf. Die Wunden der Unterschlüsselbeingrube und der Achselhöhle stehen durch einen breiten Wundkanal, der unter den Brustmuskeln durchgeht, in Verbindung. Von der Wunde der Oberschlüsselbeingrube aus kommt der tastende Finger scheinbar nach dem Mediastinum hin, ohne an das Ende des Wundkanals zu gelangen.

Beim Hineinfassen in die linke Pleurahöhle wird in den seitlichen und hinteren Partieen durch Lösung ganz leichter Verklebungen ungefähr 1 Liter eines trübserösen, gelblichroten Ergusses festgestellt. Die linke Lungenspitze ist leicht mit der Pleura verklebt. Von der Innenseite der Pleurakuppe kommt man mit dem Finger in ein kleines Loch, das mit dem von der Wunde der Oberschlüsselbeingrube ausgehenden Wundkanal kommuniziert.

Das Herz zeigt an seiner Vorderseite über der rechten Kammer eine längliche, weißlichgelbe Schwiele im Epicard.

Beim Verfolgen des von dem unteren Halsdreieck ausgehenden Wundkanals sieht man, daß er längs und vor den Gefäßen (Art. subclavia und carotis) in die Tiefe geht und nach der linken Pleurahöhle durchgebrochen ist. In der Umgebung des Wundkanals sind noch einige vergrößerte Drüsenpakete, die zum Teil vereitert sind. Ebenso sind die linken Cervicaldrüsen etwas geschwollen und eine davon vereitert.

Die Drüsen der rechten Halsseite sind zum Teil etwas vergrößert, eine etwa bohnengroße Drüse ist im Innern eitrig eingeschmolzen.

Die linken Achseldrüsen, die sich um den Wundkanal gruppieren, sind vergrößert und zum Teil vereitert. Das umliegende Gewebe ist infiltriert und zeigt besonders an den bindegewebigen Stellen starke Nekrosen. Nach Durchschneidung der Brustmuskeln übersieht man eine etwa 10 cm breite, schmierig belegte und mit nekrotischen Massen ausgekleidete Höhle. Die Drüsen in der linken Muskelgegend in der Umgebung der Wunde sind zum Teil nur geschwollen, zum Teil eitrig eingeschmolzen.

Die Milz ist ziemlich vergrößert, dunkelrot und von morscher Konsistenz. Auf dem Durchschnitt Trabekel und Follikel nicht zu unterscheiden.

Die Nieren erscheinen im ganzen etwas geschwollen. Nach Abziehen der Kapsel, was leicht geht, sieht man in beiden Nieren 5 bis 6 linsengroße, schmutziggraue Herde, die auf dem Durchschnitt kleinen Abszessen entsprechen.

Die Mesenterialdrüsen sind nicht krankhaft verändert.

Die Gehirnsektion unterbleibt aus äußeren Gründen. Anatom. Diagnose: Bubonenpest, Sepsis, Oedema pulmonum, Pleuritis exsudativa sin., Pyonephrosis dupl.

Auch dieser Krankheitsfall weicht sowohl in seinem Beginn wie auch besonders in seinem weiteren klinischen Verlauf, ganz erheblich von den Darstellungen ab, wie sie uns in den Lehrbüchern[1]) gegeben werden. Zu vermissen ist gerade dort eine Beschreibung der anfangs durchaus unklaren Krankheitsbilder, die isoliert auftretende Fälle von Pesterkrankungen so häufig bieten, und die wir auch bisher bei allen in Deutschland eingeschleppten Fällen beobachten mußten. Die Schwierigkeit, ja fast Unmöglichkeit, in kurzen Zügen ein treffendes Bild der Pesterkrankung zu zeichnen, ergibt sich nur zu rasch bei dem Studium

1) Scheube, Die Krankheiten der warmen Länder, Jena 1910. Mohr u. Staehelin, Handb. d. inn. Medizin. Berlin 1912. Abschnitt: Jochmann, Pest.

ausführlicher Berichte über die bisherigen Pestepidemieen. Sicher ist aber, daß man bei Zugrundelegen eines Krankheitsbildes, wie es z. B. Jochmann gibt, fast stets die wichtigsten Pestfälle nicht treffen wird. Er schreibt: „Mitten in der Arbeit, scheinbar aus voller Gesundheit heraus, wird der Pestkranke von Schüttelfrost, heftigen Kopfschmerzen und von intensivem Schwindelgefühl befallen. Begleitet sind diese Symptome oft von Ekel und Erbrechen, bald danach stellt sich hohes Fieber ein. Seine Sinne umnebeln sich und auffallend schnell bemächtigt sich seiner eine große Schwäche. Das Gesicht wird schlaff und ausdruckslos, die Conjunctiven röten sich lebhaft, der Gang wird unsicher und taumelnd, die Sprache schwer und stammelnd. So bietet er das Bild eines Trunkenen". Und Scheube sagt: „In den meisten Fällen erfolgt der Beginn der Krankheit plötzlich . . . . . mit der Erscheinung einer sehr schweren Störung des Allgemeinbefindens und einer enormen körperlichen und geistigen Schwäche[1]). Der Puls ist in der Regel anfangs voll, dikrot, später sehr klein."

Diese Bilder sind vermutlich auf der Höhe einer Epidemie gewonnen, und bei Vergegenwärtigung nur dieser Darstellung wird man in einem unverseuchten Lande die Frühdiagnose Pest nicht treffen, wie auch beide Autoren selbst bemerken.

Betrachten wir im Gegensatz zur obigen Darstellung nochmals kurz das Bild, das der Kranke Wh. bis zur bakteriologischen Sicherstellung seiner Pesterkrankung bot: Am 6. Sept. abends ist Wh. unter den Erscheinungen einer akuten Infektionskrankheit ohne irgendwelche bedrohliche Symptome erkrankt, am nächsten Tage lautet das ärztliche Urteil: „keinen sonderlich kranken Eindruck machend". Erst 6 Tage später (am 12. Sept.), also einer Zeit, zu der die Entscheidung über das Schicksal der Kranken meistens schon gefallen ist, fängt er an, unruhig zu werden und am 14. zeigte er, aber nur für kurze Zeit, einige der typischen Pestsymptome ziemlich deutlich ausgesprochen, nämlich stärkere Unruhe, Wandertrieb und Benommenheit. Der Puls war wohl beschleunigt, 120 und mehr, aber nicht dikrot, dabei regelmäßig, kräftig, bei guter Füllung des Arterienrohres.

In einem scharfen Gegensatz standen ferner das gute Allgemeinbefinden und die große, geistige Regsamkeit des Kranken zu der Tatsache, daß er nicht nur von einer der schwersten Infektionskrankheiten, sondern von dieser auch in der schwersten Weise befallen war. Es ist schwer zu beschreiben, wie er stets voller Aufmerksamkeit den Bewegungen des Arztes und den Handreichungen des Personals folgte. Es verging fast kein Tag, an dem er nicht Lektüre verlangt hätte, mit dem Personal versuchte er zu scherzen usw. Ich zweifle nicht, daß dieser Gegensatz noch schärfer hervorgetreten wäre, wenn der Kranke nicht durch seinen völligen Mangel an deutschen Sprachkenntnissen auf mich allein als Dolmetscher seiner zahlreichen kleinen Wünsche angewiesen gewesen wäre.

Ich kann es mir nicht versagen, an dieser Stelle einige Worte aus dem Reisebericht von Schottelius[2]) über die Bubonenpest in Bombay 1900 folgen zu lassen: „Der erste Eindruck, den der Anblick einer größeren Anzahl in einer Baracke zusammenliegender Pestkranker hervorruft, bietet insofern eine gewisse Enttäuschung — in bonam partem — als das Gesamtbild ein viel harmloseres ist, als es wohl die meisten

1) Im Original nicht gesperrt gedruckt.
2) Schottelius, Hyg. Rundschau 1901. p. 105.

sich ausmalen, auf Grund ihrer von der Furchtbarkeit der Pest geleiteten Phantasie.

Es kommt mir fast vor, als ob gerade bei uns in Deutschland die romanhaften Beschreibungen der Pest unsere Vorstellung über das Krankheitsbild mehr beeinflussen, als etwa die aus der eigentlichen Fachliteratur gewonnenen Darstellungen."

Wie mußte nun bei dem beschriebenen Allgemeinzustand des Kranken die Prognose gestellt werden? Bei dem kräftigen jungen Menschen, dessen Herz völlig gesund war, schien die Gefahr nicht allzugroß zu sein. Durch die Lokalisation des primären Bubo in der Achselhöhle wurde die Prognose nicht ungünstig beeinflußt, da die Axillarbubonen bezüglich dieser Frage in der Mitte zwischen den Leistenbubonen (günstige Prognose) und den Halsbubonen (absolut infauste Prognose) stehen.

Doch ein Urteil konnte erst abgegeben werden, nachdem zwei weitere Fragen entschieden waren. Einmal mußte abgewartet werden, ob nicht bereits ein Uebertritt der Pestbakterien in das Blut stattgefunden hatte und sich nun mannigfache Metastasen (sekundäre Bubonen usw.) entwickeln würden. Hierdurch mußte natürlich die Prognose sehr ungünstig beeinflußt werden.

Dann aber war in der Umgebung des primären Bubo die ödematöse Schwellung so stark ausgesprochen, daß bei dem völligen Verstrichensein von supra- und infraclavicularen Gruben eine Entscheidung darüber, ob die in diesen Gegenden befindlichen Lymphdrüsen nicht bereits befallen waren (primäre Bubonen zweiter Ordnung), bis jetzt noch nicht gefällt werden konnte.

Denn das muß betont werden, daß der Ausspruch Stickers, daß ein Bubo stets durch seine auffallende Empfindlichkeit zu finden sei („Der leiseste Druck genügt, um selbst bei einem tief benommenen Kranken eine Klage oder Abwehrbewegung hervorzurufen") für unseren Fall keine Gültigkeit hat.

Die erste Frage allerdings, die nach einer bereits stattgefundenen Verbreitung der Pestbakterien auf dem Blutwege, konnte bald beantwortet werden, da bereits vor Abschluß der experimentellen Untersuchungen am 14. Sept. Roseolen auftraten und dann sich in rascher Folge Pusteln, Karbunkel und ein weiterer Bubo entwickelten.

Die Entscheidung über eine Infektion der supra- und infraclavicularen Lymphdrüsen sowie die Indikation zu einem Eingriff konnte bei der völlig mangelnden Druckempfindlichkeit dieser Körperstellen erst nach Schwinden der ödematösen Infiltration und durch eine eventuell festzustellende Fluktuation gegeben werden.

Inwieweit die durch den angegebenen Befund verzögerte Diagnosenstellung als Ursache des tödlichen Ausganges der Krankheit mit in Betracht kommt, entzieht sich natürlich vollkommen der Beurteilung.

Die Therapie mußte zunächst eine rein symptomatische sein: Der primäre Bubo war breit eröffnet, frisches Pestimmunserum stand in den ersten Tagen nicht zur Verfügung, wäre auch nach der ganzen Lage des Falles unter Berücksichtigung der bisherigen unbefriedigenden Erfolge der Serumtherapie kaum besonders wertvoll erschienen [1]). Eine Impfung

1) Während einer im Winter 1912/13 unternommenen Studienreise nach Brasilien hatte Herr Dr. Vital Brazil, Direktor des „Instituto de Butantan", Sao Paulo, die Liebenswürdigkeit, diese Frage ausführlich zu erörtern. Dr. Vital Brazil teilte mir dabei mit, daß in seinem Institut ein Pestantiserum gewonnen würde, daß sich durch seinen Reichtum an spezifisch antitoxisch wirkenden Immunkörpern auszeichne. Die hiermit bisher erzielten Ergebnisse seien außerordentlich befriedigende.

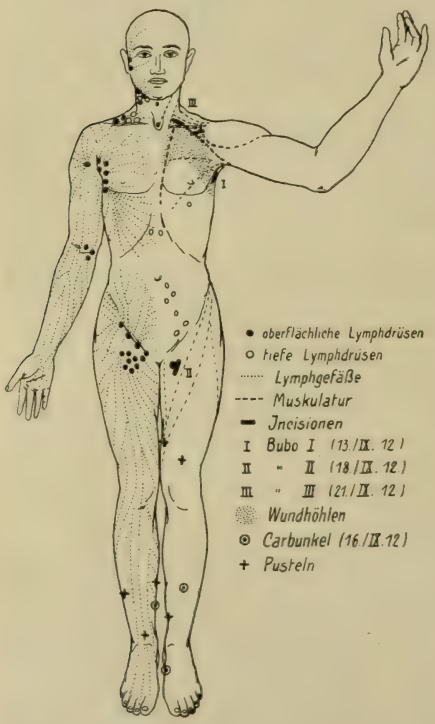
schließlich mit abgetöteten Pestkulturen, am besten mit dem homologen Stamm, konnte nicht mehr in Betracht kommen, denn der Kranke befand sich bereits in einem so weit vorgeschrittenen Stadium der Erkrankung, daß eine Impfung keineswegs als gefahrlos bezeichnet werden durfte. Aus den Berichten der Indian Plague Commission geht hervor, daß Personen, die in den ersten Tagen der Erkrankung geimpft wurden, plötzlich unter Erscheinungen starben, die nur durch eine ganz erhebliche Steigerung des Infektionsgiftes (Endotoxine) durch das Impfgift zu erklären waren.

Die Herztätigkeit wurde aufmerksam verfolgt. Digitalis ist nur an wenigen Tagen zur Anwendung gelangt.

Die Ernährung mußte eine kräftige und reichliche sein.

Es wurde Sorge getragen, das außerordentlich gesteigerte Durstgefühl durch ausreichende Flüssigkeitsverabreichung zu stillen (Champagner, Milch).

Die Richtlinien für die Therapie bei etwa auftretenden Metastasen, also in erster Linie bei weiteren Bubonen, waren durch die an anderen Stellen gesammelten Erfahrungen gegeben. Im großen und ganzen haben die Erfahrungen zu einem konservativen Verhalten geführt. Vor frühzeitiger Inzision eines Bubo, noch ehe Eiterung eingetreten und Fluktuation nachweisbar ist, wird gewarnt. Stellt sich Fluktuation ein, so ist der Bubo breit zu eröffnen und gründlich auszuräumen [1]).



Schließlich hatte ich noch in Erwägung gezogen, bei eintretender Verschlimmerung des Krankheitszustandes die Zuführung von Salvarsan unter meine therapeutischen Maßnahmen aufzunehmen. Schreyer [2]) hatte bereits während der Lungenpestepidemie in der Mandschurei einen Fall beobachten können, bei dem er eine „deutliche Einwirkung absolut erwiesen" glaubt, wenn auch trotzdem der Tod eintrat. Ich glaubte daher, von dem Salvarsan vor allem wegen seiner experimentell sichergestellten antikörpererhöhenden Wirkung [3]) Gebrauch machen zu sollen, da in dieser Richtung eine Hauptwaffe bei der Bekämpfung der Pest gegeben zu sein scheint, sei es nun, daß wir die Antikörper durch Immunserum passiv zuführen, oder daß wir — vielleicht durch Sal-

1) Herr Dr. Ferrari, Direktor des „Hospital San Sebastain", Rio de Janeiro, teilte mir mit daß sich ihre Therapie im allgemeinen auf die Zuführung von Pestantiserum beschränke. Die Bubonen würden zu diagnostischen Zwecken nur punktiert, breite Eröffnungen nur bei sehr ausgedehnten Erweichungen vorgenommen. Die Ergebnisse seien bei diesem durchaus konservativen Verfahren sehr zufriedenstellend.

2) M. m. W. 1911 p. 801.

3) Boehnke, Zeitschr. f. Chemotherapie u. verwandte Gebiete. Bd. 1. 1912.

varsan — den Körper zu aktiver, gesteigerter Immunkörperbildung anzuregen suchen.

Die weitere Entwickelung gab nun zunächst Gelegenheit zur Beobachtung der markantesten Hautsymptome bei der Pest. Sämtliche Herde finden sich im nebenstehenden Körperschema aufgezeichnet.

Bereits oben habe ich erwähnt, daß schon am 14. vormittags das Auftreten von Roseolen festgestellt wurde. Diese fanden sich an beiden Unterschenkeln und am linken Oberschenkel, die Haut des Stammes und die oberen Extremitäten dagegen waren völlig frei.

An drei derartigen Stellen hob sich am nächsten Tage die Epidermis als etwa erbsengroßes Bläschen ab, der Inhalt ging in Eiterung über. Als am 16. die Blasen eröffnet wurden, hatten die Geschwüre ungefähr Einpfennigstückgröße erreicht und mußten nach dem Bild, das sie jetzt boten, als Karbunkel angesprochen werden: der Geschwürsgrund war blaurot verfärbt, die Peripherie hob sich wallartig ab, es bestand auf Druck geringe Schmerzempfindlichkeit. Oedematöse Schwellung der Haut der Umgebung wurde nicht festgestellt, ebenso konnte keine Entzündung der zu den nächstgelegenen Lymphdrüsen führenden Lymphbahnen beobachtet werden.

Daß in unserem Falle die Karbunkel nur als Metastasen auf dem Wege der Blutbahn aufgefaßt werden können, unterliegt wohl kaum einem Zweifel und braucht daher nicht weiter erörtert zu werden.

In den nächsten Tagen entwickelten sich ebenfalls an den unteren Extremitäten an den Stellen früherer Roseolen noch einige Pestpusteln (insgesamt 6), die jedoch nach Eröffnung sehr rasch verheilten.

Neben diesen zahlreich auftretenden Metastasen konnte schließlich auch noch die Entwicklung eines weiteren Bubo (Bubo II) verfolgt werden. Dieser, im linken Oberschenkeldreieck lokalisierte, sekundäre Bubo war erheblich kleiner als der primäre, die Umgebung zeigte sich nicht verändert. Die Druckempfindlichkeit war auch bei diesem Bubo nicht sehr stark ausgesprochen; das oben besprochene „Stickersche Merkmal“ fehlte also auch hier.

Nach Feststellung von Fluktuation am 18. wurde er eröffnet, und mikroskopisch und kulturell sein Charakter als Pestbubo sichergestellt. Der weitere Heilverlauf war ein ungestörter.

Zu entscheiden, ob dieser sekundäre Bubo von dem primären Herd aus durch direkte Infektion der Lymphdrüse auf dem Blutwege oder indirekt auf dem Wege der Lymphbahnen von einem der Karbunkel aus entstanden ist, dürfte nicht so ohne weiteres möglich sein. Für den ersteren Weg spricht das Fehlen von Lymphgefäßstreifen als Zeichen einer Lymphangitis bei Infektion einer Lymphdrüse von einem Karbunkel aus. Da eine Lymphangitis aber auch ebenso häufig fehlen kann, und zudem die Zeit zwischen dem Kreisen der Pestbakterien im Blute und der Aufdeckung des sekundären Bubo vielleicht etwas lang erscheint — am 13. konnten Pestbakterien im Blute nachgewiesen werden, am 16. wurde der Bubo festgestellt — so neige ich zu der Auffassung, daß die Infektion dieser Lymphdrüse doch von einem der Karbunkel aus stattgefunden hat. Strikte Beweise für die eine oder die andere Möglichkeit zu erbringen, erscheint in diesem Falle wohl ausgeschlossen.

Ich hatte bereits oben ausführlich dargelegt, daß von Beginn an die Wahrscheinlichkeit eines Befallenseins der infra- oder supraclavicularen Lymphdrüsen wegen der ausgedehnten und starken ödematösen Schwellung dieser ganzen Gegend nicht ausgeschaltet werden konnte. Solange dies nicht verneint werden durfte, schwebte über dem Kranken

eine äußerst schwere Gefahr, da bei Ergriffensein der im Halsdreieck gelegenen Lymphdrüsen wegen der Nähe der großen Halsgefäße Thrombosen und Sepsis befürchtet werden mußten.

Erst am 18. Sept. war das kollaterale Oedem so weit zurückgebildet, daß oberhalb des Schlüsselbeins eine etwa walnußgroße Drüsenschwellung (Bubo III) sichtbar und palpabel wurde. Fluktuation war anfangs überraschenderweise nicht nachweisbar. Die Erklärung für diesen Befund ergab sich bei der dann einige Tage später nach festgestellter Fluktuation vorgenommenen Eröffnung. Druckschmerzhaftigkeit hatte schon während des ganzen Krankheitsverlaufes (vom 14. Sept. an gerechnet) nicht bestanden.

Als am 21. Sept. deutliche Fluktuation nachweisbar war, wurde breit inzidiert. Aus der Abszeßhöhle entleerte sich ziemlich dünnflüssiger Eiter, jedoch kein Drüsengewebe. Schon dieser Befund mußte darauf hinweisen, daß der Prozeß an dieser Stelle bereits längere Zeit gespielt hatte. Die weitere Untersuchung ergab aber noch, daß sich der Eiter bereits den großen Gefäßen entlang in die Tiefe gesenkt hatte, und zwar erstreckte sich die Abszeßhöhle über 4 cm weit unter das Brustbein. Hierdurch erklärt sich auch sicherlich die Schwierigkeit, Fluktuation festzustellen, da bei der Palpation der Eiter in die Tiefe gedrängt wurde.

Daß die bakteriologische Untersuchung des Eiters aus der Wunhöhle (Bubo III) keine Pestbakterien, dagegen die Anwesenheit von Staphylococcus albus ergab, will ich kurz erwähnen; bezüglich weiterer Einzelheiten muß ich auf den bakteriologischen Teil verweisen.

Anfänglich schien es allerdings, als ob der Kranke bei seinem guten Allgemeinzustand auch diese schwere Attacke noch überstehen würde. Doch bald setzten heftige Schüttelfröste ein und, nachdem in den letzten Tagen das Bild einer schweren Sepsis — verursacht durch den bakteriologisch nachgewiesenen Staphylococcus albus — bestanden hatte, trat am 29. Sept. der Tod ein.

Es drängt sich nun die Frage auf, zu welcher Zeit dieser für den Ausgang des Krankheitsfalles wahrscheinlich so entscheidende Bubo (Bubo supraclavicularis) überhaupt zur Entwickelung gekommen ist. Hierfür sind zwei Punkte als ins Gewicht fallend zu berücksichtigen. Einmal war der Bubo bei der Eröffnung bereits völlig eingeschmolzen (Drüsengewebe war überhaupt nicht mehr nachweisbar), der Eiter hatte sich bereits erheblich in die Tiefe gesenkt. Dann waren bakteriologisch, auch durch den Tierversuch, keine Pestbakterien mehr nachweisbar, dagegen gelang es, den Nachweis zu erbringen, daß inzwischen eine Mischinfektion (Staph. alb.) eingetreten war. Bei Berücksichtigung dieser Befunde muß der Zeitpunkt der Infektion der supraclavicularen Lymphdrüsen als ziemlich weit zurückliegend angenommen werden, und ich glaube ihn mit Berechtigung sogar bis in die ersten Tage der Erkrankung verlegen zu dürfen.

Besteht meine Annahme zu Recht, so war der Fall von vornherein absolut infaust, und es hat uns nur das gute Allgemeinbefinden des Kranken über die Hoffnungslosigkeit seiner Erkrankung hinweggetäuscht.

Eine für Pest charakteristische Temperaturkurve gibt es im allgemeinen nicht. Nur so viel läßt sich sagen, daß bei leichteren Fällen vom dritten Tage an die Kurve lytisch abzufallen pflegt. Zu erneutem Fieberanstieg kommt es bei Auftreten sekundärer Bubonen. Durch Mischinfektionen durch Eitererreger wird die Fieberkurve völlig kompliziert.

Am 16. Sept. nachmittags hatte ich wegen des bedrohlichen Anstieges der Temperatur aus den oben bereits dargelegten Gründen eine

Infusion von 0,3 Salvarsan vorgenommen. Dreiviertelstunde später (5 3/4 N.) setzte ein heftiger Schüttelfrost ein, der etwa 20 Minuten anhielt. Noch am gleichen Abend war die Temperatur auf 39° gefallen und betrug am anderen Morgen 37°. Doch noch am Nachmittage des gleichen Tages waren bereits wieder 40° erreicht, und der Prozeß ging scheinbar völlig unbeeinflußt weiter.

Dieser jähe Temperaturabfall darf wohl dem Salvarsan zugeschrieben werden; ob er aber irgendeine therapeutische Einwirkung ausdrückt, vermag ich nicht zu sagen. Auf die Frage der beabsichtigten Antikörpersteigerung muß ich im bakteriologischen Teil eingehen.

Die Symptome des Nervensystems, auf die gerade so viel Gewicht gelegt wird, fehlten, wie ich bereits ausführlicher dargelegt habe, fast ganz. Eine nochmalige Besprechung erübrigt sich wohl.

Auch die Conjunctivitis, die so häufig als typisch geschildert wird, fehlte bei unserem Kranken in den ersten Tagen überhaupt; später entwickelte sich dann rechtsseitige Conjunctivitis mit Iridocyclitis, die aber beide rasch wieder abheilten.

Hals und Respirationsorgane boten während der eigentlichen Pesterkrankung keine Besonderheiten.

Ebenso zeigte auch der Verdauungsapparat keine weiteren auffälligen Symptome, abgesehen von dem als häufig angegebenen Meteorismus. Dieser allerdings trat bei unserem Kranken in einer für ihn äußerst quälenden Weise auf. Durch Einläufe wurde fast stets, wenn auch nur für mehrere Stunden anhaltende Besserung erzielt.

Urin wurde entsprechend der sehr reichlichen Flüssigkeitszufuhr in großen Mengen ausgeschieden (2000—3000), das spezifische Gewicht schwankte um 1020. In den ersten Tagen wurden ganz geringe Mengen Eiweiß nachgewiesen; auffallenderweise jedoch später nicht mehr, obwohl nach Ausfall der Autopsie beide Nieren schwer geschädigt waren. Auf Leukocyten ist leider nicht untersucht worden.

Das Organ schließlich, das bei einer Pestinfektion am meisten bedroht ist und auf das der Pestbacillus seine verderblichste Wirkung im allgemeinen ausübt, ist das Herz. „Er (der Pestbacillus) vergiftet das Herz. Außer bei den ganz leichten, lokal bleibenden Erkrankungen beherrscht daher die Herzschwäche das klinische Bild: von der Widerstandskraft des Herzens ist die Prognose abhängig“ (Jochmann). Unser Kranker bot fast stets ein ganz entgegengesetztes Bild. Der Puls war allerdings beschleunigt (120 und mehr), aber er war dabei stets kräftig, voll, nie dikrot. Ich habe nie den Eindruck gehabt, daß gerade von seiten des Herzens die Hauptgefahr bei ihm drohe. Der ungeschwächten Kraft seines Herzens ist es daher auch zuzuschreiben, daß der Kranke nicht schon in den ersten Tagen seiner äußerst schweren, durch die mannigfachen Metastasen komplizierten Pesterkrankung zum Opfer fiel.

Die bei der Obduktion erhobenen Befunde habe ich bereits ausführlich mitgeteilt, so daß von einer weiteren Besprechnng abgesehen werden kann. Im großen und ganzen wurden die Ergebnisse, wie sie durch die klinische und bakteriologitche Untersuchung gewonnen waren, sichergestellt.

Ich will hier nur nochmals betonen, daß sich bei der Sektion auch auf der rechten Halsseite einige im Innern vereiterte, etwa bohnengroße Drüsen fanden. Diese lagen in der Tiefe und hatten bei Lebzeiten durch Palpation nicht festgestellt werden können. Druckempfindlichkeit in dieser Gegend hatte niemals bestanden, so daß auch dieser Befund zwingend dazu führt, Stickers Behauptung bezüglich der starken Empfindlichkeit auch nicht-palpabler, infizierter Drüsen erheblich einzuschränken.

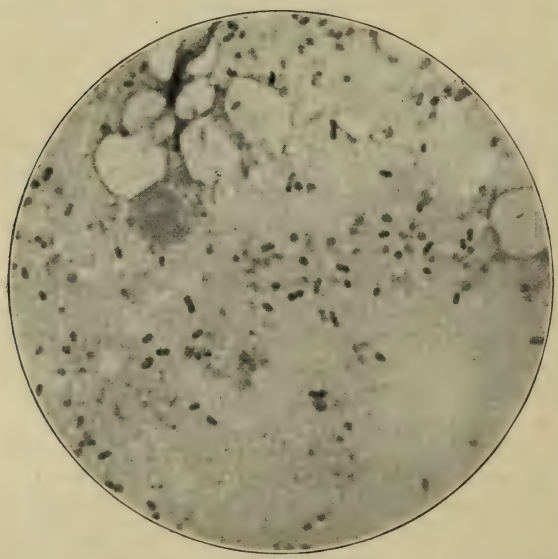
Eine sichere Todesursache konnte auch durch die Obduktion nicht aufgefunden werden, so daß es unentschieden bleiben muß, ob nicht doch noch ein akuter Herztod — wie er oft noch nach längerem Krankenlager bei Pest auftritt — den Ausgang verursacht hat.

III. Bakteriologischer Teil.

Durch die vorstehende Darstellung des klinischen Verlaufes unseres Krankheitsfalles in den ersten Tagen glaube ich gezeigt zu haben, daß auch diesmal, wie so oft bei den „ersten" Fällen, bei rein klinischer Betrachtung allein einer frühzeitigen und sicheren Diagnosenstellung erhebliche Hindernisse entgegenstanden. Um so leichter und sicherer war aber dann die Bakteriologie in der Lage, das Krankheitsbild zu klären, da, wie meine weiteren Ausführungen dartun, dieser Fall einer raschen und exakten Diagnosenstellung keine Schwierigkeiten bot.

Gleich in den Ausstrichpräparaten, die von den bei der Eröffnung des Achselhöhlenbubos (Bubo I) gewonnenen Eiter- und nekroischen Gewebsmassen angelegt waren, fanden sich zahlreiche Bakterien, die sich in Form und Färbbarkeit wie typische Pestbakterien verhielten.

Abbildung 1 zeigt das gewonnene Präparat: neben zahlreichen typischen Polstäbchen fehlen nicht die für die Pestdiagnose so wichtigen, und namentlich in älteren Herden stets auffindbaren Involutions- und Degenerationsformen.



Es mußte demnach jetzt schon der dringende Pestverdacht ausgesprochen werden; die endgültige Diagnose Pest durfte freilich erst nach Abschluß der kulturellen und serologischen Untersuchungen, sowie nach Ausfall der Tierimpfungen abgegeben werden. Es konnte für uns aber nicht mehr zweifelhaft sein, daß der Verdacht schon in kurzem bestätigt sein würde.

Bereits am anderen Tage — nach etwa 12-stündiger Bebrütung bei 35° C — fanden sich auf den mit Eiter und Drüsengewebe beschickten Agarplatten kleinste, pestartige Kolonieen, die allerdings noch so wenig differenziert waren, daß die diagnostisch so wichtige „Hofbildung" noch nicht festzustellen war.

Nach weiteren 24 Stunden — am 15. Sept. — wiesen die Kolonieen dann alle Merkmale typischer Pestkolonieen auf, und die Bakterien wurden sowohl durch die mikroskopische Untersuchung (Loeffler, Gram-Färbung, Unbeweglichkeit) wie auch durch die Agglutinationsprüfung als echte Pestbakterien identifiziert.

Am gleichen Morgen wurde eine der geimpften Mäuse tot aufgefunden. In sämtlichen Organen konnten zahlreiche Stäbchen von typischer Form und Färbbarkeit festgestellt werden. Da den gleichen Befund eines der geimpften Meerschweinchen, das getötet wurde, aufwies,

so mußte auch nach dem positiven Ausfall des Tierversuches die Diagnose Pest als sichergestellt gelten.

Bei der am 13. Sept. stattgefundenen Entnahme von Untersuchungsmaterial für die amtliche Diagnose hatte ich nicht verfehlt, auch Blut für kulturelle und serologische Untersuchungen durch Venenpunktion zu gewinnen.

Allerdings kommt der Serumdiagnose nur eine geringe praktische Bedeutung zu, da die agglutinierenden Substanzen einmal durchaus nicht immer konstant sind, oder aber überhaupt erst in der zweiten Woche auftreten. Stärker wirkende Sera als „in Verdünnungen von 1:3 bis 1:5 sind sehr selten“ [1]).

Dementsprechend konnte auch das Serum des Kranken eine Beeinflussung von Pestbakterien in einer Verdünnung 1:10 — auch nach 24 Stunden — nicht festgestellt werden. Ich werde weiter unten nochmals auf die später erhobenen serologischen Befunde kurz eingehen [2]).

Die kulturelle Untersuchung dieser gleichen Blutprobe (Blut I) verlief negativ; durch den Tierversuch gelang es jedoch, den Nachweis zu erbringen, daß am 13. Sept. noch Pestbakterien im Blute des Erkrankten zirkulierten. Allerdings kann die Zahl der im Blute kreisenden Keime wohl nicht mehr sehr groß gewesen sein, da von den 5 geimpften Tieren nur das mit der größten Dosis geimpfte Meerschweinchen (2,0 ccm subkutan) erst am 21. Sept. an einer sicheren Pestinfektion zugrunde ging. Im übrigen wurde das in den ersten Tagen noch ausstehende Ergebnis der Blutuntersuchung sehr rasch durch die weitere Entwicklung des Krankheitsverlaufes überholt, da bereits in den nächsten Tagen durch zahlreiche metastatische Herde der Beweis für die bestehende Pestseptikämie erbracht wurde.

Ich will aber noch ausdrücklich bemerken, daß ich die Entnahme des Blutes bereits vor der Eröffnung des Bubo vorgenommen habe, um gleich dem Einwand zu begegnen, daß gerade durch die Eröffnung der Uebertritt der Pestbakterien in die Blutbahn begünstigt worden sei.

Die sich mit der fortschreitenden Entwicklung des Krankheitsbildes ergebenden bakteriologischen und serologischen Untersuchungen ließen sich fast durchgängig in dem Laboratorium der Quarantäneanstalt ausführen. Die Tierversuche mußten dagegen im Pestlaboratorium des hygienischen Instituts angestellt werden, da die Einrichtungen für Tierimpfungen an Ort und Stelle aus sehr berechtigten Gründen nicht vorgesehen sind. Der Transport des Materials erfolgte natürlich stets in vorschriftsmäßiger Verpackung durch durchaus zuverlässiges Personal.

Eine systematische und sorgfältige Untersuchung erfuhren von Anfang an in erster Linie sämtliche Se- und Exkrete des Kranken. Denn nur diese Untersuchungen konnten einen weiteren Einblick in eine etwaige Allgemeininfektion des Körpers geben, falls nicht inzwischen neu sich entwickelnde Bubonen oder anderweitige metastatische Herde (Roseolen, Karbunkel, Pusteln) schon dem bloßen Auge anzeigten, daß der Krankheitsprozeß nicht lokal geblieben war. Das klinische Bild hatte allerdings, wie ich nochmals bemerken will, bis zu diesem Tage nicht erkennen lassen, daß ein Uebertritt der Infektionserreger in die Blutbahn bereits stattgefunden hatte.

Außerdem aber steigerte sich mit zunehmender Zahl der infektiösen Herde und der Ausscheidungsarten in ganz erheblichem Grade die für

1) Dieudonné u. Otto, Pest in Kolle-Wassermann. p. 222.

2) Die ausführliche Mitteilung über die erhebliche Steigerung der Antikörper bei diesem Falle ist in der Deutsch. med. Wochenschr. Bd. 38. 1912. No. 46, erschienen.

das Pflegepersonal nicht zu unterschätzende Gefahr der Infizierungsmöglichkeit. Und damit ergibt sich für den Arzt die Notwendigkeit, durch sichere und rasche Erkennung der Punkte, von denen die Hauptgefahr droht, zum Schutze des ihm unterstellten Personals vorbeugend zu wirken. Diese Forderung läßt sich aber nur unter Benutzung der Methoden der Bakteriologie erfüllen.

Zunächst gehe ich auf die Ergebnisse der Untersuchungen der Se- und Exkrete ein, soweit sie ein besonderes Interesse bieten.

Die Gesamtzahl der Untersuchungen ist unter diesem Gesichtspunkt eine sehr große (über 60) geworden, denn auch die klinisch zum Ausdruck gelangte Allgemeininfektion gab Gelegenheit zur Bearbeitung reichlichen Materials. Stuhl und Urin gelangten fast täglich zur Untersuchung; desgleichen wurde auch besondere Aufmerksamkeit auf den möglichen Nachweis der Infektionserreger in den Abstrichen der Rachenorgane gelegt; Untersuchungen über die Ausscheidung der Erreger durch den Schweiß wurden ebenfalls nicht unterlassen.

Die von seiten des Magendarmkanals beobachteten Krankheitserscheinungen (quälender Meteorismus) ließen wohl den Schluß zu auf eine Mitbeteiligung des abdominellen, lymphatischen Apparates, wodurch die Möglichkeit, auch im Stuhl die spezifischen Keime nachzuweisen, nicht von der Hand zu weisen war. Es konnte jedoch weder kulturell noch durch mehrfachen Tierversuch der Beweis für ein Befallensein irgend eines Teiles des Darmtractus erbracht werden; in keiner Weise konnte andererseits hierdurch das Vorhandensein von geschlossenen Herden abgestritten werden — in erster Linie würden dann wohl sekundär infizierte Mesenterialdrüsen in Betracht gekommen sein, denn die Faeces selbst waren von normaler Beschaffenheit, und ein Fall wie der von Trautmann und Lorey beschriebene gehört doch zu den Ausnahmen.

Im Gegensatz hierzu konnte der Nachweis der Krankheitserreger schon mit größerer Wahrscheinlichkeit im Urin erwartet werden. Die Niere ist häufig der Sitz von Pestmetastasen und die Ausscheidung der Pestbacillen durch den Harn dadurch notwendig bedingt. In Uebereinstimmung hiermit gelang es auch, durch den Tierversuch die Ausscheidung von Pestkeimen im Urin an 2 Tagen, und zwar für den 16. und 17. Sept. sicherzustellen. Kulturell gelang es dagegen nicht, das Vorhandensein der Keime zu bestätigen [1]). Ich darf an dieser Stelle nochmals auf den scharfen Gegensatz aufmerksam machen, der zwischen diesem, durch die Autopsie geklärten Befund und den klinischen Untersuchungen des Urins besteht (stets völlig klarer Urin, nur in den ersten Tagen Spuren von Eiweiß).

Vom 24. Sept. an erwies sich der Urin auch im Tierversuch als wieder frei von Pestbakterien, wie es auch nach den bisherigen Erfahrungen angenommen werden durfte, es hätte denn von den sekundären Herden aus nochmals eine Verbreitung des Infektionsgiftes durch die Blutbahn und dadurch eine zweite Infizierung der Nieren stattfinden müssen. Diese Möglichkeit konnte aber schon auf Grund der anderweitigen Befunde als unwahrscheinlich abgelehnt werden.

Die lymphatischen Apparate der Mund- und Rachenhöhle waren nach Ausfall der Untersuchungen trotz der massenhaften Ueberschwemmung des Körpers mit Pestbakterien von einer Infektion verschont geblieben. Auch klinisch hatten ja keine Beobachtungen erhoben werden können, die auf eine Mitbeteiligung der Tonsillen usw. hingewiesen hätten.

1) Es stand in den ersten Tagen keine Zentrifuge zur Verfügung, so daß nur das durch Absetzenlassen gewonnene Sediment zur Aussaat gelangte.

Die Versuche, die spezifischen Erreger im Schweiß während der fast stets von einer Temperatursteigerung begleiteten, profusen Schweißausbrüche nachzuweisen, boten von vornherein wenig Aussicht auf Gelingen; denn nur für den 13. Sept. hatte sich im Blut ein positiver Befund von Pestbakterien erheben lassen; auch an anderen Orten ist dieser Nachweis bisher noch nicht gelungen. Ich hege also auch berechtigte Zweifel, ob überhaupt eine Ausscheidung von Pestbakterien durch den Schweiß möglich ist[1]).

Eine um so reichere Ausbeute boten jetzt die Untersuchungen, von denen ein Aufschluß über die vom 15. Sept. an zur Beobachtung gelangten weiteren Krankheitserscheinungen erwartet wurde.

Die bereits am 14. und 15. Sept. bemerkten „Eiterherde" an beiden Unterschenkeln mußten, wie im klinischen Teil ausgeführt, den Eindruck durchaus harmloser Folliculitiden erwecken; es überraschte mich daher durchaus nicht, als mir in den Ausstrichpräparaten des Eiters der Nachweis von Pestbakterien nicht gelang. Doch der nächste Tag brachte bereits die Entscheidung: auf sämtlichen angelegten Kulturplatten waren typische Pestkolonieen ausgewachsen; die inzwischen auf beinahe Einpfennigstückgröße gelangten Herde mußten somit als Pestkarbunkel angesprochen werden (Karbunkel α, β, γ).

Ich glaube, diese Beobachtung weist zugleich darauf hin, daß man auch während des Ablaufes einer Pestinfektion die bakteriologischen Methoden ausgiebig zu Hilfe ziehen sollte, oder man müßte schon sämtliche Krankheitserscheinungen während der Dauer der Erkrankung als spezifisch durch den Pesterreger bedingt annehmen. Ob dieses letztere Verfahren berechtigt ist, vermag ich naturgemäß nicht zu entscheiden, möchte seine Richtigkeit aber bezweifeln.

Durch den Nachweis von Pestbakterien in den Karbunkeln war nun auch die Frage, wie der in dem linken Oberschenkeldreieck in der Entwicklung begriffene Bubo (Bubo II) zu beurteilen sei, gelöst, so daß sich eine Probepunktion zur Sicherstellung der Diagnose erübrigte. Auf weitere hierbei in Betracht kommende Fragen bin ich schon bei der klinischen Besprechung eingegangen.

Am 18. Sept. war bei diesem Bubo deutliche Fluktuation nachweisbar, und in den bei der Eröffnung und Ausräumung gewonnenen Eitermassen konnte mit Leichtigkeit der Nachweis der Pesterreger erbracht werden.

Die bakteriologische Untersuchung des am 21. Sept. aus dem supraclavicularen Bubo (Bubo III) gewonnenen Eiters gab einen Befund, der zunächst nicht klar zu deuten war. Obwohl dieser Herd bis zu dem Tage scheinbar geschlossen war, gelang in keiner Weise der Nachweis von Pestbakterien. Dagegen konnte aus dem Eiter Staphylococcus albus gezüchtet werden. Hierdurch wurden, wie ich glaube, zwei Fragen gelöst. Einmal die bereits im klinischen Teil erörterte Frage, auf welchem Wege dieser dritte Bubo entstanden sein konnte, dann, wie weiterhin die Prognose zu stellen sei.

Schon einige Tage vorher hatte ich aus dem Sekret des primären Bubo Staphylokokken (Staph. alb.) züchten können — von hier aus wird also die Mischinfektion des dritten Bubo ihren Ausgang genommen

1) Die Experimente, von denen Griesinger (Handbuch d. spez. Pathol. u. Ther. 1864) berichtet, wonach Anziehen der mit dem Schweiß Pestkranker durchnäßten Kleider in 2 Fällen am 4. und 5. Tage die Krankheit hervorrief, müssen nach dem heutigen Stande der Forschung als in ihren Versuchsbedingungen zu wenig aufgelöst, und deshalb nicht beweisfähig erscheinen.

haben. Diese kann aber nur auf dem Wege der Lymphbahnen und nicht auf dem Blutwege erfolgt sein, da weder das klinische Bild noch die bakteriologische Untersuchung Anhaltspunkte für eine Staphylokokkensepsis zu dieser Zeit bereits ergeben haben. Es hat demnach schon sehr frühzeitig eine Kommunikation — wenn auch nicht makroskopisch nachweisbar — zwischen dem Herd in der Achselhöhle und dem in der Oberschlüsselbeingrube bestanden.

Und auf diesem gleichen Wege ist auch meines Erachtens die Infektion des supraclavicularen Drüsenpaketes durch Pestbakterien bereits in den ersten Krankheitstagen erfolgt; wir hatten es also mit einem primären Bubo zweiter Ordnung zu tun.

Daß der Befund von Staphylokokken in dem Eiter durchaus nicht als unwichtig zu betrachten war, zeigten dann sowohl der weitere klinische Verlauf wie auch die bakteriologischen Untersuchungen.

Hiermit komme ich zu den Ergebnissen, die durch die bakteriologischen und serologischen Untersuchungen des Blutes gewonnen wurden.

Ich habe bereits oben erwähnt, daß in der am 13. Sept. entnommenen Blutprobe durch den Tierversuch Pestbakterien nachgewiesen werden konnten. In den am 15., 16. und 17. Sept. entnommenen Proben gelang der Nachweis bereits nicht mehr; sämtliche Proben erwiesen sich als steril. Die Infektion des Blutes ist wohl in der Hauptsache in den Tagen vor dem 13. Sept. erfolgt; denn nach Ausfall der Tierversuche können zu dieser Zeit nicht mehr zahlreiche Pestbakterien in der Blutbahn gekreist haben. Auch das klinische Bild spricht dafür, daß die auf dem Blutwege entstandenen Metastasen bereits vor dem 13. Sept. gesetzt waren.

Zwei weitere Blutproben wurden noch am 26. und 27. Sept. entnommen; die erstere während eines Schüttelfrostes. In beiden Proben konnte der Staphylococcus albus kulturell nachgewiesen werden, bei der am 27. entnommenen Probe wurde der Befund auch im Tierversuch erhoben: ein mit 1,0 ccm geimpftes Meerschweinchen ging nach 6 Tagen zugrunde; aus sämtlichen Organen wurde Staph. alb. gezüchtet.

Interessante Ergebnisse wurden nun noch bei der serologischen Bearbeitung des Blutes gewonnen. Ich kann mich auf die Angabe der Resultate beschränken unter Hinweis auf die an anderer Stelle erfolgte, ausführliche Mitteilnng.

Der in der Blutprobe vom 13. Sept. erhobene Agglutinationsbefund deckte sich mit der bisher gewonnenen Erfahrung: in einer Verdünnung von 1:10 konnte auch nach 24 Stunden keine Beeinflussung festgestellt werden. Es konnte allerdings noch nicht der homologe Stamm benutzt werden.

In den nächsten Tagen (am 15. und 16.) war der Agglutinationstiter[1]) bereits auf 1:40 gestiegen; diesmal wurde das Ergebnis bei Benutzung des homologen Stammes gewonnen, wodurch auch die späteren Resultate verständlich werden.

Hier muß nochmals daran erinnert werden, daß ich am 16. nachmittags 0,3 Salvarsan intravenös gab zur Steigerung der Antikörperbildung.

Am 17. war danach der Titer des Serums auf 1:80 gestiegen, betrug am 19. bereits 1:160 und hatte am 27. Sept. in einer Verdünnung von 1:200 wohl annährend die Grenze erreicht.

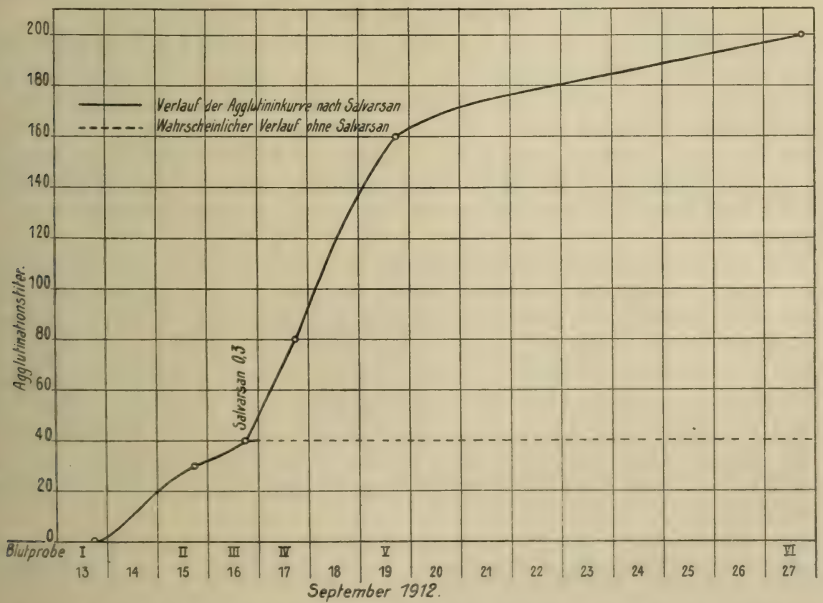
Die erreichten Zahlenwerte sind genauer aus der folgenden Tabelle und Kurve ersichtlich.

1) Es sind die nach 2-stündigem Aufenthalt im Brutschrank (35°) abgelesenen Ergebnisse zugrunde gelegt, da die nach 24 Stunden erhobenen Befunde doch des öfteren zu Fehlschlüssen Anlaß geben können.

Agglutinations-Ergebnisse.

Blutprobe	abgelesen nach	Verdünnungen 1:10	1:20	1:40	1:60	1:80	1:100	1:120	1:140	1:160	1:180	1:200	1:220	1:240	1:260	1:280	1:300
I 13. Sept. 1912	5 Min	−	−	−													
	½ St.	−	−	−													
	2 "	−	−	−													
	24 "	+ −	+ −	−													
II. 15. Sept.	5 Min.	+ +	+	+ −	−	−											
	½ St.	+ + +	+ +	+ −	−	−											
	2 "	+ + +	+ + +	+	−	−											
	24 "	+ + +	+ + +	+ +	−	−											
III. 16. Sept.	5 Min	+ +	+	+ −	−	−											
	½ St.	+ + +	+ +	+ −	−	−											
	2 "	+ + +	+ + +	+	+ −	−											
	24 "	+ + +	+ + +	+ +	+ −	−											
IV. 17. Sept.	5 Min.	+ +	+ +	+	−	−	−	−									
	½ St.	+ + +	+ + +	+ +	+	−	−	−									
	2 "	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+	+ −	−									
	24 "	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+	−									
V. 19. Sept.	5 Min	+ + +	+ + +	+ +	+	+ −	−	−	−	−	−	−	−	−			
	½ St.	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+	−	−	−	−	−	−	−			
	2 "	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ −	−	−	−			
	24 "	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+	+	+ −	−			
VI. 27. Sept	5 Min	+ + +	+ + +	+ +	+	+ −	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	½ St.	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+	+ −	+ −	−	−	−	−	−	−	−	−
	2 "	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+	+ −	+ −	−	−	−	
	24 "	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ −	−	−	

Nachstehendes Diagramm mag den akuten Anstieg und auch die beträchtliche Höhe der Agglutininbildung im Vergleich zu den bisherigen Erfahrungen noch deutlicher zum Ausdruck bringen.



Steigerung der Agglutininbildung nach Salvarsaninjektion bei einem Fall menschlicher Bubonenpest. (Abgelesen nach 2 Stunden.)

Das Ergebnis der Agglutinationsuntersuchung läßt sich dahin zusammenfassen, daß bei einem an Bubonenpest Erkrankten die Beobachtung erhoben wurde, daß wenige Tage nach einer Zuführung von 0,3 Salvarsan intravenös der Agglutinationstiter um das Fünffache gesteigert war.

Ich glaube, dieser Befund sollte Veranlassung geben, an größerem Material Nachprüfungen anzustellen.

Die Folgerungen, die sich bei einer Bestätigung ergeben werden, liegen auf der Hand. Man sollte sich aber dann nicht auf die Behandlung der bereits an Pest Erkrankten mit Salvarsan (+ Immunserum) beschränken; ich glaube vielmehr, daß man gerade bei den Schutzimpfungen durch Zuführung von Salvarsan nach vorgenommener Impfung durch die erhebliche Steigerung der Antikörper bessere Ergebnisse als bisher erzielen wird. Doch dieses können nur theoretische Erörterungen bleiben, das entscheidende Wort muß nach den an großem Material in der Praxis gewonnenen Erfahrungen gesprochen werden.

Nachdem der Fall am 30. Sept. zur Autopsie gelangt war, bot sich vielleicht noch Gelegenheit, durch bakteriologische Untersuchungen des Sektionsmaterials ein Urteil über die Verbreitung und Lebensdauer der Pestbakterien im Körper zu gewinnen. Bereits vom 20. Sept. an war der Nachweis von Pestbakterien in keinem der zahlreichen Herde mehr gelungen; ob die inneren Organe noch entwicklungsfähige Pestkeime beherbergten, wurde durch Kultur- und Tierversuche zu ermitteln versucht. Hierbei ergab sich, daß wenigstens sämtliches zur Impfung gebrachte Organmaterial, das bereits früher näher bezeichnet worden ist, frei von virulenten oder auch lebensfähigen Pestbakterien war.

Die eigentliche Pestinfektion war ungefähr am 21. Sept. abgelaufen, die weiteren Tage wurden von der Staphylokokkeninfektion beherrscht, die dann auch wahrscheinlich den tödlichen Ausgang des Falles bedingte.

IV. Epidemiologische Betrachtungen.

Die Feststellung des Falles Wh. als Pesterkrankung mußte dazu führen, bei dem Schiffsjungen M., der, wie mitgeteilt, nach kurzem Krankenlager akut zum Tode kam, gleichfalls eine Pesterkrankung als wahrscheinlich anzunehmen. In der Tat gelang es auch, aus einer bereits bei der Sektion angelegten Agar- und Bouillonkultur den Beweis zu erbringen, daß M. einer Pestinfektion erlegen war. Das Krankheitsbild war demnach gleichfalls als Pest, und zwar als „Pestis siderans" aufzufassen.

Auf welchem Wege aber dieser erste Krankheitsfall entstanden war, blieb zunächst ungeklärt. Es ist bereits mitgeteilt, daß auf der Heimreise des Schiffes keine auffälligen Krankheiten aufgetreten waren; stärkeres Rattensterben, als Zeichen einer unter den Nagern herrschenden Pestseuche, war nicht beobachtet; die zur Untersuchung gelangten 10 Ratten hatten keine Anhaltspunkte für eine Pestinfektion ergeben. Allerdings war bei einigen dieser Ratten die Fäulnis bereits so weit vorgeschritten, das in diesen Fällen ein sicheres Urteil nicht abgegeben war, wie es durch Kister und Schumacher[1]) nach eingehenden Untersuchungen festgestellt ist.

Am 10. Sept., 3 Tage nach der Abfahrt von Cuxhaven, ist nach Mitteilung des zuständigen englischen Medizinalbeamten am Nachmittage

1) Kister und Schumacher, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektions-Krankenh. Bd. 51.

Tabelle I.

Untersuchungsmaterial Fall Wh.

Datum der Entnahme	Lfde. No.	Art des Materials	Untersuchungsergebnisse[1])				Bemerkungen
			Färbeausstr.	Direkte Aussaat	Anreicher.	Tierversuch	
I. Ratten vom Dampfer „Bellailsa".							
27. Aug. 12	1	Ratte 2455	—	—	—	—	Unsezierbar
29. Aug. 12	2—5	„ 2485/88	neg.	neg.	—	—	Frischtot, totgeschl., path.-anat. unverd.
3. Sept. 12	6	„ 2566	„	„	—	—	Leicht faul, path.-anat. unverd.
5. Sept. 12	7—8	„ 2640/41	„	„	—	—	Frischtot, totgeschl., path.-anat. unverd.
6. Sept. 12	9—10	„ 2699, 2705	—	—	—	—	Unsezierbar
II. Material Mc. Whirter.							
13. Sept. 12	**11**	Bubo axillar. (Bubo I)	pos.	pos.	—	pos. 15. Sept.	2 M. †, 3 M.S †. 4 R. †, 1 R. neg.
	12	Blut (1)	—	neg.	neg.	pos. 21. Sept.	1 M. neg., 1 R. neg. 2 M.S. neg., 1 M.S. 20 †.
14. Sept. 12	13	Rachenabstrich	neg.	„	„	neg.	
15. Sept. 12	**14**	Bubo I	pos.	pos.	—	—	Nur Degenerationsformen.
	15	Blut (2)	—	neg.	neg.	neg.	
	16	Urin	—	„	„	—	
	17	Rachenabstrich	neg.	„	„	—	
16. Sept. 12	18	Blut (3)	—	„	„	neg.	
	19	Stuhl	—	„	„	„	
	20	Urin	—	„	„	pos. 22. Sept.	2 M.S. †.
	21	Schweiß	neg.	„	„	—	
	22	Rachenabstrich	„	„	„	—	
	23	Karbunkel α	„	pos.	pos.	—	
	24	„ β	„	pos.	pos.	—	
	25	„ γ	„	pos.	pos.	—	
17. Sept. 12	26	Blut (4)	—	neg.	neg.	neg.	
	27	Stuhl	—	„	„	„	
	28	Urin	—	„	„	pos. 23. Sept.	1 R. †, M.S. †.
	29	Rachenabstrich	neg.	„	„	—	
	30	Schweiß	„	„	„	—	
18. Sept. 12	31	Stuhl	—	„	„	—	
	32	Urin	—	„	„	—	
	33	Bubo fossae oval. (Bubo II)	pos.	pos.	—	—	
	34	Pustel a	neg.	„	pos.	—	
19. Sept. 12	35	Blut (5)	—	neg.	neg.	neg.	
	36	Urin	—	„	„	—	
	37	Schweiß	neg.	„	„	—	
	38	Rachenabstrich	„	„	„	—	
	39	Pustel b	„	„	„	—	
	40	„ c	„	„	„	—	
	41	„ d	„	„	„	—	

Hygien. Institut

1) — bedeutet: Untersuchung nicht ausgeführt. †: tot mit positivem Befund. Die positiven Ergebnisse sowie die metastatischen Herde sind gesperrt gedruckt.

Datum der Entnahme	Lfde. No.	Art des Materials	Untersuchungsergebnisse				Bemerkungen
			Färbeausstr.	Direkte Aussaat	Anreicher.	Tierversuch	
20. Sept. 12	42	Sekret a. lk. Conjunctivalsack	neg.	neg.	neg.	—	
	43	Stuhl	—	„	„	—	
	44	Urin	—	„	„	—	
	45	Eiter Bubo I	neg.	„	„	—	
	46	Pustel e	„	„	„	—	
	47	„ f	„	„	„	—	
21. Sept. 12	48	Bubo cervic. (Bubo III)	„	„	„	—	Kultur Staphyl. albus
	49	Rachenabstrich	„	„	„	—	
	50	Nasenabstrich	„	„	„	—	
	51	Tonsillenabstrich	„	„	„	—	
22. Sept. 12	52	Zellgew.BuboIII	„	„	„	—	
	53	Stuhl	—	„	„	—	
23. Sept. 12	54	„	—	„	„	—	
	55	Urin	—	„	„	—	
	56	Eiter Bubo III	neg.	„	„	neg.	
24. Sept. 12	57	Urin	—	„	„	„	
	58	Pustel a	—	„	„	—	
	59	Karbunkel α	neg.	„	„	—	
	60	„ β	„	„	„	—	
	61	„ γ	„	„	„	—	
	62	Stuhl	—	„	„	—	
25. Sept. 12	63	Sekret Bubo II	neg.	„	„	—	
	64	Stuhl	—	„	„	—	
	65	Urin	—	„	„	—	
26. Sept. 12	66	Blut	—	Staph. albus		—	Hygien. Inst.
	67	Schweiß	neg.	neg.	neg.	—	
	68	Stuhl	—	„	„	—	
	69	Urin	—	„	„	—	
27. Sept. 12	70	Blut (6)	—	pos.	f. Staph. albus		1 M.S. †, Staph. albus. 1 R. neg.
	71	Gewebsf. Bubo I	neg.	neg.	neg.	neg.	
	72	Speichel (Sput.?)	„	„	„	„	
	73	Urin	—	„	„	—	
		Sektionsmaterial.					
1. Okt. 12	74	Niere (Abszeß)	—	—	—	neg.	Hyg. Inst.
	75	Achseldrüse rechts	—	—	—	„	Hyg. Inst.
	76	Gewebsf. - Achselh. links	—	—	—	„	Hyg. Inst.
	77	Inguinaldrüse rechts	—	—	—	„	Hyg. Inst.
	78	Mesenterialdrüse	—	—	—	„	Hyg. Inst.
		III. Umgebungsuntersuchungen.					
14. Sept. 12	79	Rachenabstrich Pat. He.	—	neg.	—	neg.	1 R. neg. 1 M.S. neg. Hygien. Institut
	80	Rachenabstrich Pat. Haf.	—	„	—	„	1 R. neg. 1 M.S. neg. Hygien. Institut
	81	Rachenabstrich Schw. T. N.	—	„	—	„	1 R. neg. 1 M.S. neg. Hygien. Institut
	82	Rachenabstrich Oberschw. J. P.	—	„	—	„	1 R. neg. 1 M.S. neg. Hygien. Institut
15. Sept. 12	83	Rachenabstrich Pfleg. K.	—	„	neg.	—	

Datum der Entnahme	Lfde. No.	Art des Materials	Untersuchungsergebnisse: Färbeausstr.	Direkte Aussaat	Anreicher.	Tierversuch	Bemerkungen
17. Sept. 12	84	Blut (Pat. Haf.)	—	neg.	neg.	neg.	1 R. neg. 1 M.S. neg. (Inst.)
	85	Stuhl (Pat. Haf.)	—	„	—	„	1 R. neg. 1 M.S. neg. (Hyg. Inst.)
	86	Urin (Pat. Haf.)	—	„	neg.	„	1 R. neg. 1 M.S. neg. (Hyg. Inst.)
	87	Rachenabstrich Schw. Ub.	—	„	„	—	
	88	Rachenabstrich Wärter D.	—	„	„	—	
	89	Rachenabstrich Wärter Kr.	—	„	„	—	
19. Sept. 12	90	Blut (Pat. Haf.)	—	„	„	neg.	1 R. neg. 1 M.S. neg.
	91	Stuhl (Pat. Haf.)	—	„	„	—	
	92	Urin (Pat. Haf.)	—	„	„	—	
23. Sept. 12	93	Rachenabstrich Schw. Ub.	—	„	„	—	
	94	Rachenabstrich Wärter D.	—	„	„	—	
	95	Rachenabstrich Wärter Kr.	—	„	„	—	
2. Okt. 12	96	Rachenabstrich Schw. Ub.	—	„	„	neg.	1 R. neg. 1 M.S. neg. (Schlußuntersuch. Hygien. Institut)
	97	Rachenabstrich Wärter D.	—	„	„	„	1 R. neg. 1 M.S. neg. (Schlußuntersuch. Hygien. Institut)
	98	Rachenabstrich Wärter Kr.	—	„	„	„	1 R. neg. 1 M.S. neg. (Schlußuntersuch. Hygien. Institut)
	99	Rachenabstrich Verw. K.	—	„	„	„	1 R. neg. 1 M.S. neg. (Schlußuntersuch. Hygien. Institut)

der Ankunft des Schiffes auf der Tyne ein weiterer Schiffsjunge (Ra.) plötzlich unter schweren Allgemeinerscheinungen erkrankt. Es entwickelte sich eine Lungenentzündung und nach 6 Tagen (16. Sept.) ist der Kranke gestorben. Durch die bakteriologische Untersuchung wurde als Aetiologie der Erkrankung Pest festgestellt.

Gleichzeitig wurden auf dem Schiff noch 12 Ratten gefunden, von denen sich eine als pestinfiziert erwiesen hat. Durch diesen Befund war also der Beweis geliefert, daß tatsächlich unter den Ratten des Schiffes eine Pestseuche geherrscht hatte[1]).

1) Nachträglich gelange ich in Besitz der ausführlichen Mitteilung: A. Recent Outbreak of Plague amongst Apprentices on board a British Steamer. Dr. Harker, Medical Officer of Health. River Tyne Port Sanitary Authority. Erschienen im Jahresbericht. Von Wichtigkeit scheint mir die folgende äußerst interessante Notiz zu sein: Die drei Schiffsjungen M., Wh. und Rae. hatten als gemeinsames „Spielzeug" ein zahmes Kaninchen, dessen Stall sich nahe der Fundstelle der pestinfizierten Ratte befand. Man kann wohl ungezwungen annehmen, daß die Ratten auch im Stalle des Kaninchens sich ihre Nahrung gesucht haben, so daß eine Infizierung des Kaninchens mit Pest nicht ohne weiteres auszuschließen ist. Merkwürdigerweise starb das Kaninchen ganz plötzlich am 1. September — der Kadaver wurde über Bord geworfen, so daß eine bakteriologische Untersuchung nicht stattfinden konnte. Am 2. September erkrankte dann der Schiffsjunge M., an dessen Erkrankung sich nun die weiteren anschlossen.

Ich gebe zu, es ist in diesem Falle sehr verlockend (der Schiffsjunge Ro. und die gesamte Mannschaft blieben gesund, sie waren mit dem Kaninchen und den erkrankten Schiffsjungen nicht in Berührung gekommen) die Formel Ratte-Kaninchen-Mensch für den Weg der Infektion aufzustellen, wenn auch der strikte Beweis fehlt.

Tabelle II.
Uebersichtstabelle der Tierversuche.

Lfd. No.	Nummer und Tier-nummer	Tag der Impfung	Art der Impfung	Art des Materials	Gestorben oder getötet	Tag der Sektion	Ergebnis		Bemerkungen
							positiv	negat.	
				Material Mc. Whirter.					
				Mäuse.					
1	1. M. 12	13. 9.	0,5 subk.	Eiter Bubo I	gestorben	16. 9.	+		
2	2. M. 13	„	0,5 intrap.	„ „	„	15. 9.	+		
3	3. M. 14	„	0,5 intrap.	Blut	getötet	19. 9.	—	negat.	
				Ratten.					
4	1. R. 23	13. 9.	0,5 subk.	Eiter Bubo I	getötet	27. 9.	+		
5	2. R. 24	„	1,0 „	„ „	gestorben	16. 9.	+		
6	3. R. 25	„	2,0 „	„ „	„	„	+		
7	4. R. 26	„	Haut-tasche	„ „	getötet	27. 9.	—	negat.	
8	5. R. 27	„	kutan	„ „	„	16. 9.	+		
9	6. R. 28	„	2,0 subk.	Blut	„	19. 9.	—	„	
10	7. R. 32	14. 9.	subkutan	Rachenabstrich	„	„	—	„	
11	8. R. 37	16. 9.	2,0 subk.	Stuhl	gestorben	18. 9.	—	„	
12	9. R. 38	„	1,0 „	„	„	17. 9.	—	„	
13	10. R. 41	18. 9.	„ „	Blut (15. 9.)	getötet	27. 9.	—	„	
14	11. R. 42	„	„ „	Blut (16. 9.)	„	„	—	„	
15	12. R. 43	„	„ „	Blut (17. 9.)	„	„	—	„	
16	13. R. 44	„	„ „	Urin	gestorben	23. 9.	+		nur mikrosk. (s. R. 52 Lfd. No. 32)
17	14. R. 47	20. 9.	„ „	Blut (19. 9.)	getötet	27. 9.	—	„	
18	15. R. 49	23. 9.	„ „	Eiter Bubo III	„	14. 10.	—	„	
19	16. R. 73	„	kutan	„ „	„	15. 10.	—	„	
20	17. R. 53	25. 9.	„	Urin	gestorben	30. 9.	—	„	
21	18. R. 58	28. 9.	„	Blut (27. 9.)	getötet	15. 10.	—	„	
22	19. R. 59	„	„	Gewebsf. Bubo I	„	„	—	„	
23	20. R. 60	„	Haut-tasche	Sputum	„	„	—	„	
24	21. R. 61	„	kutan	„	„	„	—	„	
25	22. R. 62	1. 10.	2,0 subk.	Abszeß Niere	„	16. 10.	—	„	} Sektions-material
26	23. R. 63	„	„ „	Achseldrüse rechts	„	„	—	„	
27	24. R. 64	„	„ „	Gewebsf. Bubo I	„	„	—	„	
28	25. R. 65	„	„ „	Inguinaldr. rechts	„	„	—	„	
29	26. R. 66	„	„ „	Mesenterialdrüse	„	„	—	„	
30	27. R. 50	24. 9.	„ „	Organ M.S. 34	gestorben	27. 9.	+		
31	28. R. 51	„	kutan	Verunrein. Agar-kultur M.S. 35	„	12. 10.	+		
32	29. R. 52	„	„	Agarkultur R. 44	getötet	14. 10.	—	„	
				Meerschweinchen.					
33	1. M.S. 20	13. 9.	kutan	Eiter Bubo I	getötet	18. 9.	+		
34	2. M.S. 21	„	1,0 subk.	„ „	„	15. 9.	+		
35	3. M.S. 22	„	0,5 „	„ „	gestorben	16. 9.	+		
36	4. M.S. 23	„	1,0 „	Blut	getötet	19. 9.	—	negat.	
37	5. M.S. 24	„	Haut-tasche	„	gestorben	26. 9.	—	„	
38	6. M.S. 25	„	2,0 subk.	„	„	21. 9.	+		
39	7. M.S. 29	14. 9.	subkutan	Rachenabstrich	getötet	19. 9.	—	„	
40	8. M.S. 34	16. 9.	2,0 „	Urin (16. 9.)	gestorben	24. 9.	+		s. R. 50 Lfd. No. 30
41	9. M.S. 35	„	1,0 „	„ „	„	22. 9.	+		s. R. 51 Lfd. No. 31
42	10. M.S. 36	„	kutan	Stuhl	„	23. 9.	—	„	
43	11. M.S. 37	„	„	„	„	27. 9.	—	„	
44	12. M.S. 39	18. 9.	1,0 subk.	Blut (15. 9.)	„	25. 9.	—	„	
45	13. M.S. 40	„	„ „	„ (16. 9.)	„	20. 9.	—	„	
46	14. M.S. 41	„	„ „	„ (17. 9.)	getötet	27. 9.	—	„	

Lfd. No.	Nummer und Tier-nummer	Tag der Impfung	Art der Impfung	Art des Materials	Gestorben oder getötet	Tag der Sektion	Ergebnis		Bemerkungen
							positiv	negat.	
47	15. M.S. 42	18. 9.	1,0 subk.	Urin (17. 9.)	gestorben	25. 9.	+		
48	16. M.S. 43	„	kutan	Stuhl (17. 9.)	„	24. 9.	—	negat.	
49	17. M.S. 44	„	„	„ „	„	25. 9.	—	„	
50	18. M.S. 49	20. 9.	1,0 subk.	Blut (19. 9.)	„	23. 9.	—	„	
51	19. M.S. 52	23. 9.	„ „	Eiter Bubo III	„	25. 9.	—	„	
52	20. M.S. 53	25. 9.	„ „	Urin	„	29. 9.	—	„	
53	21. M.S. 59	28. 9.	„ „	Blut (27. 9.)	„	3. 10.	Staphyl. albus		
54	22. M.S. 60	„	kutan	Gewebsf. Bubo I	getötet	15. 10.	—	„	
55	23. M.S. 61	„	„	Sputum	„	15. 10.	—	„	
56	24. M.S. 62	1. 10.	2,0 subk.	Abszeß Niere	„	16. 10.	—	„	
57	25. M.S. 63	„	„ „	Achseldrüse rechts	„	„	—	„	Sektionsmaterial
58	26. M.S. 64	„	„ „	Gewebsf. Bubo I	„	„	—	„	
59	27. M.S. 65	„	„ „	Inguinaldr. rechts	„	„	—	„	
60	28. M.S. 66	„	„ „	Mesenterialdrüse	gestorben	4. 10.	—	„	
				Umgebungsuntersuchungen.					
				Ratten.					
61	30. R. 33	14. 9.	subkutan	Rachenabstrich Pat. H.	getötet	19. 9.	—	negat.	
62	31. R. 34	„	„	Rachenabstrich Schw. T.	„	„	—	„	
63	32. R. 35	„	„	Rachenabstrich Oberschw. J.	„	„	—	„	
64	33. R. 36	„	„	Rachenabstrich Pat. Ha.	„	„	—	„	
65	34. R. 67	5. 10.	„	Rachenabstrich Verw. K.	„	14. 10.	—	„	
66	35. R. 68	„	„	Rachenabstrich Schw. U.	„	„	—	„	
67	36. R. 69	„	„	Rachenabstrich W. Kr.	„	„	—	„	
68	37. R. 70	„	„	Rachenabstrich W. D.	„	„	—	„	
				Meerschweinchen.					
69	29. M.S. 30	14. 9.	subkutan	Rachenabstrich Pat. H.	getötet	19. 9.	—	negat.	
70	30. M.S. 31	„	„	Rachenabstrich Schw. T.	„	„	—	„	
71	31. M.S. 32	„	„	Rachenabstrich Oberschw. J.	„	„	—	„	
72	32. M.S. 33	„	„	Rachenabstrich Pat. Ha.	„	„	—	„	
73	33. M.S. 45	18. 9.	„	Blut (17. 9.) Pat. Ha.	gestorben	26. 9.	—	„	
74	34. M.S. 45	„	kutan	Stuhl (17. 9.) Pat. Ha.	„	25. 9.	—	„	
75	35. M.S. 47	„	„	Stuhl (17. 9.) Pat. Ha.	„	24. 9.	—	„	
76	36. M.S. 48	„	subkutan	Urin (17. 9.) Pat. Ha.	getötet	27. 9.	—	„	
77	37. M.S. 50	20. 9.	„	Blut (19. 9.) Pat. Ha.	gestorben	21. 9.	—	„	
78	38. M.S. 67	5. 10.	„	Rachenabstrich Verw. K.	getötet	14. 10.	—	„	
79	39. M.S. 68	„	„	Rachenabstrich Schw. U.	„	„	—	„	
80	40. M.S. 69	„	„	Rachenabstrich W. Kr.	gestorben	11. 10.	—	„	
81	41. M.S. 70	„	„	Rachenabstrich W. D.	getötet	14. 10.	—	„	

Daher kann wohl auch ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten der Pest unter den Ratten und der Besatzung des Schiffes ungezwungen angenommen werden. Bei der zuerst aufgetretenen Erkrankung des M. bedarf dieser Punkt wohl keiner Erörterungen mehr. Ob der zweiterkrankte Wh. nun gleichfalls von den Ratten aus infiziert oder ob die Ansteckungsquelle in dem Schiffsjungen M. zu suchen ist, kann nur mit Vermutungen beantwortet werden. Beide Möglichkeiten lassen sich nicht abstreiten.

Als Erklärung für die Erkrankung des dritten Schiffsjungen sind wir wohl allein auf die Ratten als Ueberträger angewiesen. Der Fall M. liegt zu weit zurück, der Kranke Wh. hatte höchstens einen in der Entwickelung begriffenen, aber noch geschlossenen Herd. Die Wahrscheinlichkeit für die Lungeninfektion des Schiffsjungen Ra. durch einen dieser beiden Kranken ist also äußerst gering.

Bemerkenswert ist in unseren Fällen das Auftreten der Pesterkrankungen unter drei durchaus verschiedenen Bildern auf einem so kleinen Raume. Pestsepsis, Bubonenpest, und Pestpneumonie haben sich nacheinander entwickelt. Eine Erklärung für diesen höchst auffälligen Befund zu geben, scheint mir bisher nicht möglich.

Durch die während der Dauer der Erkrankung des Wh. in weitestem Maße ausgeführten Umgebungsuntersuchungen, versuchte ich ein Urteil über die Verstreuungsmöglichkeit von Pestbakterien bei der Bubonenpest zu gewinnen.

Allerdings schien schon von vornherein die Gefahr, daß von dem Kranken aus tatsächlich eine Verbreitung der Keime stattfand, äußerst gering zu sein. Eine Verstreuung durch unsachgemäße Behandlung infektiösen Materials (Verbandzeug, Urin) wurde natürlich durch stete Kontrolle des Personals ausgeschaltet.

Anders wäre die Lage zu beurteilen gewesen, wenn sich bei dem Kranken in den Luftwegen Prozesse hätten feststellen lassen, die durch Pestbakterien bedingt waren. Dieses muß aber auf Grund der zahlreichen Untersuchungen von Abstrichen der Rachenorgane abgelehnt werden.

Dementsprechend verliefen auch sämtliche Untersuchungen, die sich auf alle Leute erstreckten, die mit dem Kranken in Berührung gekommen waren, negativ.

Für die Uebertragung der Keime bei unserem Fall von Bubonenpest fehlte eben der Zwischenträger, der auch schon in den Tagen vor der bakteriologischen Aufdeckung der Erkrankung Wh. gefehlt haben muß; und ohne ihn bedeutet, wie ich glaube, die Bubonenpest im allgemeinen nur eine geringe Gefahr für die Umwelt.

In der Anlage folgen die Uebersichten des Untersuchungsmaterials und der Tierversuche.

Weitere Literatur.

Bericht d. deutsch. Pestkommission.
Bericht der österreich. Pestkommission.
Anweisung z. Bekämpfung d. Pest. Amtl. Ausg.
Kolle und Hetsch, Die experimentelle Bakteriologie.
Musehold, Die Pest und ihre Bekämpfung. (Bibl. v. Coler Bd. 8.)
Reiche, Münchn. med. Wochenschr. 1900 Bd. 47.
Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheits-A. Bd. 17.
Vagedes, Ueber die Pest in Oporto.
Sticker, Die Pest. Gießen 1910.
Scholz, Probleme der Pestbekämpfung. Centralbl. für Bakt. 1912. Löffler, Festschrift.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen im Samen tuberkulöser Menschen[1]).

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie an der Universität Straßburg. Direktor: Geheimrat Uhlenhuth.]

Von Privatdoz. Dr. **H. Dold** und Dr. **A. Rothacker.**

Die bisher erschienenen Arbeiten über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in den männlichen Genitalorganen bzw. dem Sperma lassen sich in Untersuchungen an Tiermaterial (Meerschweinchen, Kaninchen) und solche an Menschenmaterial gruppieren.

Was die ersteren betrifft, so wurde hauptsächlich Meerschweinchenmaterial verarbeitet. Landouzy und Martin (1) haben den Samen von 8 schwer tuberkulösen Meerschweinchen an andere gesunde Meerschweinchen (15) verimpft und dabei in 4 Fällen ein positives Impfresultat erzielt. Die Tiere sollen schon 9—10 Tage(!) nach der Impfung an Tuberkulose eingegangen sein, eine Angabe, die wenig vertrauenerweckend klingt und den Verdacht nahelegt, daß die Versuchstiere schon vor der Impfung tuberkulös waren.

Gärtner (2) stellte ebenfalls Versuche über das Vorkommen von Tuberkelbacillen im Samen tuberkulöser Meerschweinchen an; der Samen wurde durch Friktion gewonnen. Unter 32 Samenentnahmen und Verimpfungen führten 5 zu Impftuberkulosen.

Meerschweinchenböcke, denen vor der Kohabitation Tuberkelbacillen in die Hoden gespritzt worden waren, erzeugten aber trotzdem keine tuberkulöse Nachkommenschaft.

Es wären hier noch die Versuche von Maffucci (3) zu erwähnen, der das Sperma von Kaninchen, denen kurz zuvor Tuberkelbacillen intravenös einverleibt worden waren, auf Meerschweinchen verimpfte und dabei positive Impfresultate hatte.

Schließlich hat Cavagnis (4) über Impfversuche mit Hodenstückchen tuberkulöser Meerschweinchen mit negativem Ergebnis berichtet. Aber die Impfversuche mit Organstücken können unseres Erachtens hauptsächlich wegen der dabei nicht zu vermeidenden Uebertragung von Blut nicht zur Entscheidung der Frage über das Vorkommen von Tuberkelbacillen im Samen und der dadurch gegebenen Möglichkeit der germinativen Uebertragung der Tuberkulose herangezogen werden.

Untersuchungen an menschlichem Leichenmaterial über das Vorkommen von Tuberkelbacillen im Sperma sowie in Hoden und Prostata hat zuerst Jani (5) vorgenommen. Er untersuchte 9 an Lungentuberkulose gestorbene Leichen (die frei von Hoden-, Prostata- oder Samenblasen-Tuberkulose waren) und konnte in keinem Falle mikroskopisch Tuberkelbacillen feststellen. Tierversuche wurden nicht angestellt. Durch histologische Untersuchung von Hoden und Prostata bei 8 anderen Fällen (die ebenfalls frei von Genitaltuberkulose waren), konnte er 5mal in den Samenkanälchen des Hodens, und bei 6 weiteren Fällen 4mal in der Prostata, und zwar in der nächsten Nachbarschaft der Drüsenepithelien, vereinzelte Tuberkelbacillen feststellen.

1) Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind bereits auf der Mikrobiologenversammlung am 3. April 1913 in Berlin von Dold mitgeteilt worden.

Ueber die Bedeutung, welche dem Auffinden von Tuberkelbacillen in den Genitalorganen für die Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen im Samen zukommt, haben wir uns oben schon geäußert.

In der Folgezeit berichteten verschiedene Autoren [Sirena und Pernice (6), Solles (7), Foà (8)] je über gelegentliche und ganz vereinzelte positive Verimpfungen von Samen tuberkulöser Leichen an Hunde (!).

Eine größere Bedeutung kommt der Arbeit von Spano (9) zu, der das Sperma von 8 tuberkulösen Leichen (ohne Genitaltuberkulose) auf Meerschweinchen verimpfte und 6mal ein positives Impfergebnis hatte, sowie der von Jäckh (10), welcher bei 5 tuberkulösen Leichen das Sperma verimpfte und 3mal ein positives Resultat erzielte. Auch Nakarai (11) gibt an, daß nach seinen Untersuchungen im gesunden Genitalapparat (Hoden, Nebenhoden, Samenbläschen) von an Phthise gestorbenen Männern Tuberkelbacillen in der Mehrzahl der Fälle vorkommen; bei 7 Spermaverimpfungen an Meerschweinchen sah er 3mal eine Impftuberkulose auftreten, während es ihm nur 1mal unter diesen 7 Fällen gelang, die Bacillen im gefärbten Ausstrich zu finden.

Zu anderen Ergebnissen kamen Rohlff (12), Westermayer (13), Walther (14) und Dobroklowsky (15).

Westermayer und Walther verimpften Organstückchen (Hoden und Ovarium bzw. Hoden und Prostata) tuberkulöser Leichen mit negativem Erfolg.

Rohlff und Dobroklowsky stellten ihre Versuche mit dem Samen tuberkulöser Leichen an. Der erstere brachte Sperma von 10 Phthisikerleichen in die vordere Augenkammer von Ziegen und Kaninchen, und erzielte so keine Impftuberkulose, was bei der geringen Menge des verimpften Materials und bei der Wahl ungeeigneter Versuchstiere nicht verwunderlich ist. Dobroklowsky prüfte den Sameninhalt von 25 phthisischen Leichen mikroskopisch und durch den Tierversuch auf Tuberkelbacillen. In 24 Fällen war das Ergebnis negativ und nur in 1 Fall gelang es sowohl mikroskopisch als auch durch den Tierversuch, Tuberkelbacillen nachzuweisen, und in diesem Falle lag Nebenhodentuberkulose vor.

Es ergibt sich aus dieser Zusammenstellung der bisher vorliegenden Angaben über das Vorkommen von Tuberkelbacillen im Samen tuberkulöser Individuen, daß diese Frage noch nicht geklärt ist.

Durch die Gewährung von Geldmitteln von seiten des Kaiserlichen Ministeriums für Elsaß-Lothringen und durch das liebenswürdige Entgegenkommen des Direktors des hiesigen Pathologischen Instituts, Herrn Prof. Chiari, ist uns die Durchführung einer größeren Anzahl diesbezüglicher Untersuchungen ermöglicht worden, über die wir im folgenden berichten.

I. Untersuchungen an Leichenmaterial.

Es war mit dem Pathologischen Institut die Verabredung getroffen worden, daß uns die intakten, mit den Organen des kleinen Beckens in toto herausgenommenen Samenblasen tuberkulöser männlicher Individuen sofort nach der Sektion zugestellt werden sollten, und zwar ausschließlich aller Fälle von Tuberkulose der Genitalien, Prostata und benachbarter Organe. Zur Kontrolle unserer Technik sollten uns auch gelegentlich — ohne unser Wissen — die Samenblasen nicht-tuberkulöser Individuen zur Verarbeitung übergeben werden. Eine solche Kontrolle

der Technik halten wir für sehr wertvoll, wenn man bedenkt, wieviel tuberkulöses Material tagtäglich auf dem Sektionstisch, den Instrumenten usw. verschmiert wird und wie leicht auf diese Weise (bei falscher Technik) nicht-tuberkulöse Organe nachträglich infiziert werden können.

Technik:

Die in toto mit den Organen des kleinen Beckens herausgenommenen Samenblasen wurden sofort nach der Ankunft freipräpariert und dann mit einem Bunsenbrenner oberflächlich, besonders in der Gegend des Fundus, wo die Samenentnahme erfolgen sollte, energisch abgesengt und so sterilisiert. Nun wurde, während ein Assistent mit 2 sterilen Hakenpinzetten den Fundus hochhob, zwischen den Pinzetten mit einer sterilen Schere inzidiert. Der spontan, oder durch sanftes von unten nach oben ausgeführtes Streichen sich entleerende Samen wurde vorsichtig in der Inzisionsöffnung durch eine sterile Spritze mit abgestumpfter Nadel aufgesaugt, in einer sterilen Petri-Schale mit etwas steriler physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und je 2 Meerschweinchen in die Kniefaltengegend durch die geschorene und desinfizierte Haut eingespritzt. Wenn der Samen sehr reichlich war, wurde nur der Inhalt einer Samenblase, anderenfalls der beider Samenblasen verimpft. Mit den in den Samenblasen noch zurückgebliebenen Samenresten wurden Ausstrichpräparate angefertigt. Die Ausstriche wurden in der allgemein üblichen Weise nach Ziehl-Neelsen gefärbt, und zwar wurden von jedem Fall 3 Präparate angefertigt, die sorgfältig durchgemustert wurden.

Die geimpften Tiere wurden einzeln bzw. zu zweien (jeder Fall für sich) in Töpfen gehalten bis zum spontanen Tod bzw. bis zu der nach ca. 3 Monaten erfolgten Tötung der Tiere.

Auf diese Weise wurde im ganzen der Samen von 31 männlichen Leichen verimpft, und zwar handelte es sich, wie wir nach Beendigung der Versuche und den Sektionsprotokollen des Pathologischen Institutes erfuhren:

In 23 Fällen um chronische bzw. subakute (1 Fall) Lungentuberkulose (Fall 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 22, 24, 25, 28, 31), bei Fall 4 und 12 war noch eine Miliartuberkulose hinzugetreten,
„ 1 Fall um eine alte Spitzentuberkulose (Fall 30),
„ 1 Fall um eine alte Spitzen- und chronische Drüsentuberkulose (Fall 18),
„ 1 Fall um eine Pericarditis tuberculosa haemorrhagica mit chronischer Spitzentuberkulose und tuberkulösen Darmgeschwüren (Fall 10),
„ 5 Fällen um Leichen ohne Tuberkulose (Kontrollen), (Fall 21, 23, 26, 27, 29).

II. Untersuchungen an lebendem Material.

Für die Frage der germinativen Uebertragung der Tuberkulose und der Möglichkeit einer tuberkulösen Infektion der weiblichen Genitalia durch das Sperma eines tuberkulösen Mannes sind Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen im Samen lebender Menschen wichtiger und entscheidender als solche an Leichenmaterial. Wir haben deswegen analoge Untersuchungen mit dem durch Coitus condomatosus gewonnenen Samen tuberkulöser Männer angestellt. Es handelte sich um 3 Männer im Alter von 35—45 Jahren.

Die beiden ersten (D. u. W.) waren ambulante Patienten der hiesigen medizinischen Poliklinik. Pat. D. litt an einem beiderseitigen, chronisch indurierenden, tuberkulösen Prozeß der Lungen; Pat. W. an einer linksseitigen tuberkulösen Spitzenaffektion und an Larynxtuberkulose. Der dritte Patient war ein noch dienstfähiger Institutsdiener, der an einem

sehr chronisch, mit zeitweiligen Remissionen verlaufenden tuberkulösen pleuritischen Prozeß leidet.

Dieser durch Coitus condomatosus gewonnene Samen wurde ebenso wie der vom Leichenmaterial stammende verarbeitet. Es wurden mit dem durch 0,85-proz. sterile Kochsalzlösung verdünnten Material Meerschweinchen subkutan geimpft und außerdem in jedem Fall noch 3 gefärbte Ausstrichpräparate angefertigt.

Ergebnis der Untersuchungen.

Was das Leichenmaterial anlangt, so zeigte das Ergebnis der ohne unser Wissen eingeschobenen Kontrollfälle, daß unsere Technik einwandfrei war.

Die Untersuchung der 5 Kontrollfälle von Samen nicht-tuberkulöser Männer (Fall 21, 23, 26, 27, 29) ergab sowohl im mikroskopischen Bild als auch im Tierversuch das Fehlen von Tuberkelbacillen.

Von den übrigen 26 Fällen kamen noch 2 (Fall 6 und 11) in Abzug, da hier die Versuchstiere bald nach der Impfung interkurrent eingingen. Es bleiben also 24 Fälle von Impfungen mit Samen Tuberkulöser.

Bei diesen 24 Fällen kam es 16mal zu einer Impftuberkulose (nämlich bei Fall 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 22).

Bemerkenswert ist, daß alle diese 16 positiven Fälle Individuen betrafen, welche an chronischer Lungentuberkulose litten und daran zugrunde gingen; während die leichteren Tuberkulosen keine positiven Resultate lieferten.

In allen positiven Fällen zeigten die Versuchstiere, und zwar meist alle beide (Fall 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17), in einigen Fällen (Fall 19 und 22) nur eines der beiden geimpften Tiere eine echte Impftuberkulose, d. h. eine von der Impfstelle ausgehende, dem Lymphweg folgende, aufsteigende Tuberkulose mit tuberkulösen Verkäsungsherden in den Kniefaltendrüsen, Inguinal-, Iliacal-, Retroperitoneal- und oft auch Retrosternaldrüsen, mit tuberkulösen Herden in der Milz, der Lunge, in vorgeschrittenen Fällen auch in der Leber.

Es ist unbedingt nötig, daß man sich nicht mit der Feststellung Tuberkulose beim Versuchstier begnügt, da gar nicht selten beim Meerschweinchen spontane Tuberkulosen (besonders Inhalations- und Fütterungstuberkulosen), welche natürlich mit der Impfung gar nichts zu tun haben, vorkommen.

Ferner haben wir uns in jedem Fall sowohl durch eine histologische Untersuchung wie durch Anfertigung von Ausstrichpräparaten davon überzeugt, daß es sich wirklich um Tuberkelbacillen und um Tuberkulose handelte.

Auch diese Feststellung ist unbedingt zu fordern, da man mit „Pseudotuberkulosen“ zu rechnen hat und selbst Geübte sich schon getäuscht haben, wenn sie aus dem bloßen Aussehen der Meerschweinchenorgane eine Tuberkulose diagnostizierten.

In großem Gegensatz zu den Ergebnissen der Tierversuche steht das Resultat der direkten mikroskopischen Untersuchung der Samen. Hierbei konnten nur in 3 Fällen (Fall 2, 12, 17) säurefeste Stäbchen vom Aussehen der Tuberkelbacillen ermittelt werden. Dies scheint auf den ersten Blick auffallend, ist es aber doch nicht so sehr, wenn man bedenkt, daß man durch die mikroskopische Untersuchung doch nur

einen ungeheuer kleinen Bruchteil des gesamten zur Verimpfung gelangenden Materials prüfen konnte. Außerdem ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß das tuberkulöse Virus im Samen seine Säurefestigkeit verloren hat, eine Möglichkeit, die auch Jani und Jäckh erörtern.

Die Untersuchung des vom Lebenden stammenden Samenmaterials hatte, wie aus der Zusammenstellung ersichtlich ist, ein völlig negatives Ergebnis. Weder im mikroskopischen Bilde noch im Tierversuch waren Tuberkelbacillen nachzuweisen.

Die bisher untersuchten Fälle von lebendem Samenmaterial sind an Zahl noch zu gering, um uns jetzt schon zu bestimmten Schlußfolgerungen bezüglich des Vorkommens von Tuberkelbacillen im Samen lebender tuberkulöser Männer zu berechtigen.

Immerhin fällt der Gegensatz zwischen Leichen- und lebendem Materil auf; dort unter 24 Fällen 16mal ein positives Impfergebnis, hier unter 6 Fällen kein einziges positives Resultat.

Der Unterschied dürfte dadurch zu erklären sein, daß es sich bei dem zu positiven Impfungen führenden Leichenmaterial um sehr schwere, tödliche Tuberkulosen handelte, während die Spender des lebenden Samens an leichteren Tuberkuloseformen litten, welche sie zum Teil nicht einmal arbeitsunfähig machten. Das Leichenmaterial ist unseres Erachtens ganz anders zu beurteilen wie Material, das vom Lebenden stammt; denn es ist sehr wahrschweinlich, daß in den letzten Tagen der Krankheit, in der Agone, eine Ueberschwemmung des Blutes mit Tuberkelbacillen stattfindet, so daß die Bacillen ante mortem noch in alle Organe und so auch in den Hoden, die Prostata und die Samenblasen gelangen. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Tuberkelbacillen auch mit dem Sekret der Prostata in den Samen gelangen, da gerade die Prostata nach den Untersuchungen von Jani, auch wenn sie ganz frei von Tuberkulose ist, bei tuberkulösen Leichen häufig zahlreiche Tuberkelbacillen enthält.

Interessant ist ein Vergleich der Ergebnisse der Blut-Untersuchungen mit den Resultaten unserer Samen-Untersuchungen. Wie bekannt, ist in letzter Zeit von vielen Seiten das häufige Vorkommen von Tuberkelbacillen im strömenden Blut Tuberkulöser aller Stadien (ja sogar bei Leuten ohne klinisch erkennbare Tuberkulose) behauptet worden. Eine genaue, auf zahlreiche Tierversuche gestützte Nachprüfung, die Rothacker und Charon[1]) in unserem Institut ausgeführt haben, ergeben jedoch, daß dies nicht der Fall ist und daß die Tuberkelbacillen nur bei Miliartuberkulose und bei den schweren Formen der Tuberkulose — wie man das ja bisher immer annahm — in nachweisbarer Zahl im Blute kreisen. In gleichem Sinne sind die Untersuchungen im Kaiserlichen Gesundheitsamt (Lange und Lindemann) und die im Bonner Hygienischen Institut (E. Fränkel) ausgefallen.

Es scheint nun zunächst ein gewisser Widerspruch zu bestehen zwischen den Ergebnissen unserer Blut-Untersuchungen, wo wir sehr selten Tuberkelbacillen fanden, und denen unserer Samen-Untersuchungen, wo wir sie sehr häufig nachwiesen, zu bestehen. Dies ist aber nicht der Fall. Denn da, wo wir im Samen häufig Tuberkel-

---

1) Die Resultate dieser Untersuchungen sind bereits auf der Mikrobiologenversammlung in Berlin am 3. April 1913 von Dold (Diskussionsbemerkung) mitgeteilt worden.

Leichenmaterial.

Laufende No.	No. der geimpften Meerschw.	Datum der Impfung	Pathologisch-anatomische Diagnose	Samenausbeute	Tod der geimpften Tiere	Resultat der Impfung
1	645 646	10. 2. 12	Klinik Wenckebach. E. B., 17 J. Sekant: Dr. Tilp Tuberculosis chronica pulmonum c. phthisi. Ulcera tuberculosa laryngis et intestin. Tuberculosis chronica gland. lymph. mes. Tod: 9. Febr. 1912 3^{30} a. m. Sektion: 10. Febr. 1912 a. m.	wenig. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	9. 5. 12 6. 7. 12	keine Tuberkulose
2	232 233	14. 2. 12	Abt. Cahn. St. M., 25 J. Sekant: Dr. Tilp Tuberculosis chronica pulmonum c. phthisi. Ulcera tuberculosa laryngis et intestini. Tuberculosis chronica gland. lymph. peribronch. Vegetationes globulosae auriculae cordis Tod: 13. Febr. 1912 5^{h} p. m. Sektion: 14. Febr. 1912 a. m.	reichlich. TB. in Ausstrichpräparaten	3. 4. 12 24. 4. 12	aufsteigende Impftuberkulose (Verkäsung der Kniefalten-, Inguinal, Iliacal-, Retroperitoneal-, Retrosternaldrüsen. Mit zahlreichen Tuberkeln durchsetzte stark vergrößerte Milz. Tuberkelknötchen in beiden Lungen. TB. mikroskopisch nachgewiesen)
3	456 457	26. 2. 12	Abt. Cahn. 26 J. Sekant: Dr. Tilp Tubercularis chronica pulmonum c. phthisi. Tbc. chron. gl. lymph. peribronch. Ulcera tbc. laryngis et intestini Tod: 25. 2. 1912 $12^{1}/_{2}^{h}$ a. m. Sektion: 26. Febr. 1912 a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	17. 4. 12 24. 4. 12	dgl. wie bei No. 2
4	464 465	16. 3. 12	Abt. Cahn. Miliartb. 26 J., Fr. H. Sekant: Dr. Tilp Tuberculosis obsoleta et chronica. gland lymph. peribronch. Tubercul. miliaris pulmonum et renum Meningitis bas. tbc. Tod: 15. März 1912 1^{h} a. m. Sektion: 16. März 1912 a. m.	sehr spärlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	18. 6. 12	aufsteigende Impftuberkulose (Verkäsung der Kniefalten-, Inguinal-, Iliacal-, Retroperitoneal-, Retrosternaldrüsen. Große tuberkulöse Milz, zahlreiche Knötchen in den Lungen. TB. mikroskopisch nachgewiesen)
5	826 827	1. 4. 12	Klinik Wenckebach. G. K., 33 J. Sekant: Dr. Fauth Tuberculosis chronica pulmonum c. phthisi. Tuberculosis chron. gland. lymph. peribronch. Ulcera, tbc. intestini. Tod: 30. März 1912 $6^{h\ 30}$ a. m. Sektion: 1. April 1912 a. m.	spärlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	25. 7. 12 getötet	dgl. wie bei 4

Laufende No.	No. der geimpften Meerschw.	Datum der Impfung	Pathologisch-anatomische Diagnose	Samenausbeute	Tod der geimpften Tiere	Resultat der Impfung
6	201 202	2. 4. 12	Abt. Cahn. 21 J. Sekant: Dr. Seckel Tuberculosis chronica pulmonum c. phthisi. Tbc. chron. gland. lymph. peribronch. Ulcus tbc. recti. Ulcera tbc. laryngis Tod: 1. April 1912 4^{h} a. m. Sektion: 2. April 1912 a. m.	spärlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	6. 4. 12	an Bauchdeckenphlegmone eingegangen
7	840 841	26. 4. 12	Abt. Cahn. 54 J. Sekant: Dr. Seckel Tuberculosis chron. pulmon. c. phthisi. Tuberculos. chronica gland. lymph. peribronch. Haemorrhagia in tractum bronchialem. Adhaesio pleuritica d. Tod: 25. April 1912 3^{45} p. m. Sektion: 26. April 1912 a. m.	reichlich. Vereinzelte TB. in Ausstrichpräparaten	25. 7. 12 getötet	aufsteigende Impftuberkulose. TB. mikroskopisch nachgewiesen
8	953 954	4. 6. 12	Abt. Cahn. Th. W., 52 J. Sekant: Dr. Seckel Tuberculosis chronica pulmonum c. phthisi. Tuberculosis chronica gland. lymph. peribronch. Ulcera tuberculosa laryngis. Tuberculosis chron. gland. lymph. mesent. Ulcera tuberculosa intestini. Tod: 3. Juni 1912 6^{30} p. m. Sektion: 4. Juni 1912 a. m.	sehr reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	2. 9. 12 getötet	aufsteigende Impftuberkulose. TB. mikroskopisch nachgewiesen
9	955 956	5. 6. 12	Abt. Stolz. J. B., 19 J. Sekant: Dr. Tilp Tuberculosis chronica pulmonum c. phthisi. Tbc. chron. gland. lymph. peribronch. Ulcera tuberculosa laryngis. Thoracotomia sin. propter empyema sin. a. d. X. Tod: 4. Juni 1912 11^{5} Sektion: 5. Juni 1912 a. m.	sehr spärlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	25. 9. 12 getötet	aufsteigende Impftuberkulose. TB. mikroskopisch nachgewiesen
10	959 960	10. 6. 12	Klinik Wenckebach. Sekant: Prof. Chiari Tuberculosis chronica ap. pulmonum. Pericarditis tuberculosa haemorrhagica. Ulcera tuberculosa coeci et coli ascend. Tod: 9. Juni 1912, 3^{h} a. m. Sektion: 10. Juni 1912 a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	4. 12. 12 21. 11. 12	aufsteigende Impftuberkulose. TB. mikroskopisch nachgewiesen

Laufende No.	No. der geimpften Meerschw.	Datum der Impfung	Pathologisch-anatomische Diagnose	Samenausbeute	Tod der geimpften Tiere	Resultat der Impfung
11	100 101	19. 6. 12	Klinik Wenckebach. E. S., 23 J. Sekant: Prof. Chiari Tuberculosis chronica apicum pulmonum c. phthisi in lobo sup. d. Ulcera tuberculosa intestini. Tbc. granularis subacuta pulmonum Tod: 18. Juni 1^h p. m. Sektion: 19. Juni 1912 a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	21. 6. 12 25. 6. 12	an interkurrenter Krankheit eingegangen
12	1001 1002	25. 6. 12	Klinik Czerny. R. A., $11^1/_2$ J. Sekant: Dr. Seckel Tuberculosis chronica pulmonum c. phthisi. Tbc. chron. gland. lymph. Ulcera tbc. intestini tenuis. Tbc. miliaris univers. Tod: 24. Juni 1912 12^h mitt. Sektion: 25. Juni 1912 a. m.	spärlich. TB. in Ausstrichpräparaten	25.10.12 getötet	aufsteigende Impftuberkulose. TB. mikroskopisch nachgewiesen
13	1019 1020	11. 7. 12	Abt. Cahn. R. M., 25 J. Sekant: Dr. Seckel Tuberculosis chronica pulmonum c. phthisi. Tbc. chron. gland. lymph. peribronch. et mesent., lienis, coeci. Infarctio haemorrhag. gland. suprarenalis d. e. thrombosi venae supraren. d. Tumor lienis Tod: 10. Juli 1912 2^h p. m. Sektion: 11. Juni 1912 a. m.	spärlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	7. 12. 12 2. 12. 12	Aufsteigende Impftuberkulose, Verkäste Inguinal-, Iliacal-, Retroperitoneal-, Retrosternaldrüsen. Kolossal vergrößerte tuberkulöse Milz, tuberkulöse Pneumonie, blutiger Ascites, Polyserositis. TB. mikroskopisch nachgewiesen
14	1041 1042	24. 7. 12	Abt. Cahn. G. L., 30 J. Sekant: Dr. Tilp Tuberculosis chronica pulmonum c. phthisi. Tuberculosis chron. gland. lymph. peribronch. Ulcera tuberculosa laryngis et tracheae. Vulnus p. tracheotom. ante ann. II. Ulcera tuberculosa intestini. Gland. supraren. access. sin. Tod: 23. Juli 1912, 9^{30} p. m. Sektion: 24. Juli 1912 a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten nachweisbar	4. 11. 12 getötet	aufsteigende Impftuberkulose. TB. mikroskopisch nachgewiesen
15	1053 1054	30. 7. 12	Abt. Cahn. M. U., 57 J. Sekant: Dr. Seckel Tuberculosis chronica. pulmonum. c. phthisi. Tbc. chron. gland. lymph. peribronch. et mesent. Ulcera tbc. intestini crassi et tenuis. Tod: 29. Juli. 1912 Sektion: 30. Juli 1912 a. m.	spärlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	4. 12. 12	aufsteigende schwere Impftuberkulose. TB. mikroskopisch nachgewiesen

Laufende No.	No. der geimpften Meerschw.	Datum der Impfung	Pathologisch-anatomische Diagnose	Samenausbeute	Tod der geimpften Tiere	Resultat der Impfung
16	1056 1057	12. 8. 12	Klinik Wenckebach. H. D., 66 J. Sekant: Menze Tuberculosis obs. apic. pulmonum et gland. lymph. peribronch. Tbc. subacuta. pulmon. Tbc. periton. Endocarditis vetus ad valvul. aortae c. stenosi ostii arteriosi sin. Tod: 11. Aug. 1912 6^{h} p. m. Sektion: 12. Aug. 1912 a. m.	mäßig. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	5. 10. 12 17. 10. 12	aufsteigende Tuberkulose. TB. mikroskopisch nachgewiesen
17	1095 1096	17. 9. 12	Abt. Cahn. G. F., 27 J. Sekant: Dr. Tilp Tuberculosis chronica pulmonum c. phthisi. Ulcera tuberculosa intestini. Caries tbc. mandibul. Dysenteria necroticans int. crassi. Thrombosis venae cav. inf. Tod: 16. Sept. 1912 8^{h} p. m. Sektion: 17. Sept. 1912 a. m.	sehr spärlich. TB. in Ausstrichpräparaten	7. 1. 13 6. 1. 13	aufsteigende Impftuberkulose. TB. mikroskopisch nachgewiesen
18	1150 1151	4. 11. 12	Klinik Wenckebach. K. P., 58 J. Sekant: Dr. Tilp Tbc. obsol. ap. pulm. et gl. l. peribronch. Tbc. chron. gl. supraren. d. Pneumonia croup. sin. in gangraena. Pleuritis ichorosopurul. sin. Encephalomalacia d. vetus. Tod: 3. Nov. 1912 6$^{1}/_{2}$^{h} morg. Sektion: 4. Nov. 1912 a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	20. 2. 13 getötet	keine Tuberkulose
19	1199 1200	16. 11. 12	Abt. Cahn. E. G., 38 J. Sekant: Dr. Tilp. Tbc. chron. pulmon. c. phthisi. Tbc. chron. gl. lymph. peribronch. Ulcera tbc. laryngis, tracheae et intestini Tod: 15. Nov. 1912 11^{h} p. m. Sektion: 16. Nov. 1912 a. m.	sehr reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	10. 1. 13 20. 1. 13	aufsteigende Impftuberkulose. TB. mikroskopisch nachgewiesen. Keine Tuberkulose
20	1235 1236	30. 11. 12	Klinik Wenckebach. A. G., 62 J. Sekant Dr. Tilp Tbc. chron. pulm. Tbc. obsol. gl. l. peribronch. Concretio cordis c. pericardio totalis. Peritonitis chron. adhaes. Emphysema pulm., Bronchitis Tod: 29. Nov. 1912 11^{h} p. m. Sektion: 30. Nov. 1912 a. m.	spärlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	18. 3. 13 getötet	keine Tuberkulose

Laufende No.	No. der geimpften Meerschw.	Datum der Impfung	Pathologisch-anatomische Diagnose	Samenausbeute	Tod der geimpften Tiere	Resultat der Impfung
21	1310 1311	4. 12. 12	Klinik Manasse. J. D., 53 J. Sekanten: Prof. Chiari, Dr. Tilp Vulnus post operat. abscessus cerebelli ex otitide media dextra. Cholecystitis chron. Cholelythiasis Tod: 3. Dez. 1912 7^h a. m. Sektion: 4. Dez. 1912 a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	18. 3. 13 getötet	keine Tuberkulose (Kontrolle)
22	1328 1329	7. 12. 12	Abt. Cahn. E. S., 25 J. Sekant: Dr. Tilp Tuberculosis chronica pulmonum c. phthisi. Tuberculosis chronica gland. lymph. peribronch. Ulcera tuberculosa intestini et laryngis Tod: 6. Dez. 1912 5^h a. m. Sektion: 7. Dez. 1912. a. m.	sehr reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	30. 1. 13 29. 1. 13	keine Tuberkulose. Aufsteigende Impftuberkulose. TB. mikroskopisch nachgewiesen
23	1332 1333	9. 12. 12	Klinik Wenckebach. A. Sch., 15 J. Sekanten: Prof. Chiari, Dr. Tilp Endocarditis recent. ad valvul. aortae et ad valv. bicusp. Pericarditis serofibrinosa. Haemorrhag. in cavum. pericard. e laesione parietis ventriculi sin. punctione effecta Tod: 7. Dez. 1912 $7^1/_2{}^h$ a. m. Sektion: 9. Dez. 1912 a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	20. 3. 13 13. 3. 13	keine Tuberkulose (Kontrolle)
24	1455 1456	10. 1. 13	Abt. Cahn. M. Sch., 25 J. Sekanten: Dr. Tilp, Wagner. Tuberculosis chronica pulmonum c. phthisi. Ulcera tuberculosa laryngis et tracheae. Ulcera tbc. intestini. Tbc. chron. gland. lymph. mes. Tod: 9. Jan. 1913 9^h a. m. Sektion: 10. Jan. 1913 a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	20. 3. 13 getötet	keine Tuberkulose
25	1457 1458	13. 1. 13	Klinik Madelung. M. Sch., 43 J. Sekant: Prof. Chiari. Phthisis tuberculosa pulmonum praecipue lobi sup. pulm. sin. Pyopneumothorax sin. e perforat. cavernae tbc. lobi sup. pulm. sin. Vulnus post thoracotom. duplicem Tod: 12. Jan. 1913 9^{30} p. m. Sektion: 13. Jan. 1913. a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	3. 3. 13 20. 3. 13	keine Tuberkulose

Laufende No.	No. der geimpften Meerschw.	Datum der Impfung	Pathologisch-anatomische Diagnose	Samenausbeute	Tod der geimpften Tiere	Resultat der Impfung
26	1459 1460	13. 1. 13	Abt. Ehret. Th. Sch., 40 J. Sekant: Dr. Tilp Mors per suspensionem. Ruptura intimae art. car. com. s. Tbc. chron. pulm. c. phthisi. Ulcera tbc. intestini. Tod: 10. Jan. 1913 5^{30} a. m. Sektion: 13. Jan. 1913 a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	15. 4. 13 getötet	keine Tuberkulose (Kontrolle)
27	1461 1462	14. 1. 13	Abt. Boeckel. E. H., 44 J. Sekant: Dr. Tilp Vulnus punctum thoracis. Vulnus p. thoracotom. et resect. partis costae V. sin. a. d. VII. Pleuritis fibrinosa sin. Tod: 12. Jan. 1913 2^{30} a. m. Sektion: 14. Jan. 1913 a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	15. 4. 13 getötet	keine Tuberkulose (Kontrolle)
28	1473	18. 1. 13	Klinik Wenckebach. J. L., 20 J. Sekant: Dr. Tilp Tuberculosis chronica pulmonum c. phthisi. Tuberculosis chronica gland. lymph. peribronch. Tod: 17. Jan. 1913 6^{h} a. m. Sektion: 18. Jan. 1913. a m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	6. 4. 13 getötet	keine Tuberkulose
29	1475	20. 1. 13	Klinik Madelung. Chr. L., 51 J. Sekant: Dr. Tilp Sarcoma recidivans humeri d. Tod: 18. Jan. 1913 4^{45} p. m. Sektion: 20. Jan. 1913 a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	6. 4. 13 getötet	keine Tuberkulose (Kontrolle)
30	1507	22. 1. 13	Klinik Manasse. E. M., 38 J. Sekant: Dr. Tilp Vulnus p. oparat. radical. otitid. mediae chron. d. a. horas V. Abscessus metastatici pulm. in gangraena. Icterus. univers. Tbc. obsol. apicis. pulm. d. Tod: 21. Jan. 1913 11^{45} p. m. Sektion: 22. Jan. 1913 a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	6. 4. 13 getötet	keine Tuberkulose
31	1591	12. 3. 13	Klinik Wenckebach. C. B., 43 J. Sekant: Dr. Tilp Tbc. chron. pulmon. c. phthisi. Ulcera tbc. intestini et tracheae Tod: 10. März 1913 Sektion: 12. März 1913 a. m.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten	16. 5. 13 getötet	keine Tuberkulose

Lebendes Material.

Laufende No.	No. der geimpften Meerschw.	Tag der Impfung	Durch „Coitus condomatus“ gewonnenes Sperma	Menge des Spermas	Tod der geimpften Tiere	Resultat der Impfung
1	852 853	3. 5. 12	Patient D.	reichlich. Keine TB. in Ausstrichpräparaten nachweisbar	16. 8. 12	keine Tuberkulose
2	1015 1016	8. 7. 12	Patient W.	dgl.	10. 11. 12	keine Tuberkulose
3	1039 1040	23. 7. 12	Patient D.	dgl.	13. 11. 12	keine Tuberkulose
4	1467 1468	20. 1. 13	Patient M.	dgl.	7. 4. 13 getötet	keine Tuberkulose
5	1560	26. 1. 13	Patient M.	dgl.	7. 4. 13 getötet	keine Tuberkulose
6	1564	1. 2. 13	Patient M.	dgl.	25. 4. 13 getötet	keine Tuberkulose
7	1803	20. 3. 13	Patient M.	dgl.	28. 5. 13 getötet	keine Tuberkulose
8	1804	27. 3. 13	Patient M.	dgl.	28. 5. 13 getötet	keine Tuberkulose

bacillen nachwiesen, handelte es sich um Personen, die an schwerer Lungentuberkulose litten und daran zugrunde gegangen waren und — um Leichenmaterial; bei den Blutuntersuchungen an Lebenden dagegen, wo sehr selten Tuberkelbacillen gefunden wurden, handelt es sich dagegen um alle Stadien der Tuberkulose (leichte, mittelschwere und schwere), wobei aus begreiflichen Gründen schwerste, moribunde Fälle nicht inbegriffen waren. Außerdem sei nochmals hervorgehoben, daß bis jetzt in dem von lebenden Tuberkulösen stammenden Samen keine Tuberkelbacillen nachgewiesen werden konnten.

Es scheint demnach sowohl aus unseren Blut- wie aus unseren Samen-Untersuchungen hervorzugehen, daß Tuberkelbacillen nur bei Miliartuberkulose und den schweren und schwersten Formen der Tuberkulose in durch den Tierversuch nachweisbarer Zahl im Blute vorkommen. Besonders in den letzten Stadien der Tuberkulose, in der Agone, werden die Bacillen in größerer Zahl im Blute zirkulieren und dann auch in den Samen gelangen.

Zusammenfassung.

Im Samen von 24 tuberkulösen Leichen konnten 16mal durch den Tierversuch (und nur 3mal im gefärbten Präparat) Tuberkelbacillen nachgewiesen werden.

In allen diesen 16 positiven Fällen handelte es sich um schwere, zum Tode führende Lungentuberkulosen. Bei leichteren Tuberkuloseformen konnten Tuberkelbacillen dagegen im Samen nicht festgestellt werden; ebensowenig bei an anderen Krankheiten gestorbenen Leichen (5 Kontrollversuche).

In 8 von 3 tuberkulösen Männern stammenden Samenproben konnten Tuberkelbacillen weder mikroskopisch noch durch den Tierversuch nachgewiesen werden.

Literatur.

1) Landouzy et Martin, Sur quelques faits expérimentaux relatifs à l'histoire de l'Hérédo-Tuberculose. Etudes expérimentales et cliniques sur la tuberculose publiées sous la direction de Verneuil. T. 1. p. 59. Paris 1887.
2) Gärtner, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1893. p. 101—250.
3) Maffucci, Centralbl. f. allg. Pathol. u. path. Anat. 1894. p. 1.
4) Cavagnis, Vittorio, Atti dell' Instituto Veneto. 1885/86. Ser. 6. T. 4. p. 1145.
5) Jani, Virchows Arch. Bd. 103. 1895. p. 522.
6) Sirena e Pernice, Gazz. degli ospitali. 1887.
7) Solles, Journ. méd. de Bordeaux. 1892.
8) Foà, Gazz. degli ospitali. 1892.
9) Spano, Rev. de la tuberc. 1893. No. 4.
10) Jaeckh, Virchows Arch. Bd. 142. 1895. p. 101.
11) Nakarai, Zieglers Beitr. Bd. 24. 1898. p. 327.
12) Rohlff, Diss. Kiel 1885.
13) Westermayer, Diss. Erlangen 1893.
14) Walther, Zieglers Beitr. Bd. 16. 1894. p. 274.
15) Dobroklowsky, Rev. de la tuberc. 1895. p. 195.

Nachdruck verboten.

Ueber Wesen und Ursache der Mutation bei Bakterien.

Untersuchungen über die Morphologie und Variabilität des Friedländerschen Pneumoniebacillus.

[Aus der med. Klinik Erlangen (Direktor: Geh. Hofrat Penzoldt).]

Von Dr. **Erich Toenniessen,** Oberarzt der Klinik.

Mit 1 Tafel.

Inhalt.

I. Allgemein-biologische Grundlagen.
Der Begriff der natürlichen Art; die reine Linie als Gegenstand der experimentellen Variabilitäts- und Vererbungsforschung.
Artbeständigkeit und Artumbildung.
Ursachen für die natürliche Artumbildung.
Formen der Variabilität.
II. Experimenteller Teil. Die Mutation des Friedländerschen Pneumoniebacillus.
Normaler Typus; Konstanthalten der Kulturen.
Die Erscheinungen der Variabilität; Modifikation und Fluktuation.
Mutation: Gewinnung der Mutante, Beschleunigung der Mutation und Bildung der Sektormutanten.
Prämutationsphase.
Eigenschaften der Mutante: Beständigkeit und Rückschläge.
III. Schlußfolgerungen.
Entwicklung des Mutationsbegriffes.
Uebertragung desselben auf die Bakteriologie.
Aeußerlich sichtbare Gesetzmäßigkeiten der Mutation.
Wesen der Mutation.
Ursache der Mutation und des Rückschlages.
Bedeutung der Mutation für die Artbeständigkeit.

Durch die in den letzten Jahren immer häufiger beobachteten Mutationserscheinungen ist die Frage nach der Variabilität der Bakterien in einer neuen Richtung lebhaft angeregt worden. Trotz des reichlich

vorliegenden Tatsachenmaterials sind jedoch die Ansichten über den Begriff der Mutation noch auffallend wenig geklärt. Es ist dies nur dadurch verständlich, daß die Forschung sich bis jetzt hauptsächlich auf die Beobachtung und Beschreibung der Erscheinungen beschränkte. Indessen scheint es mir an der Zeit, eine einheitliche Vorstellung über das Wesen und die Bedeutung der Mutation aus den Tatsachen abzuleiten. Die Mutation ist eine Erscheinung der Veränderlichkeit der Arten; zu ihrem Verständnis sind die Grundbegriffe der allgemeinen Biologie und nicht nur die der spezielleren Variabilitäts- und Vererbungsforschung unbedingt erforderlich. Ich möchte deshalb, bevor ich auf eigene Versuche und Schlußfolgerungen zu sprechen komme, die Ergebnisse der allgemeinen Biologie, soweit sie für die Mutation in Betracht kommen, in möglichster Kürze zusammenfassen.

I. Allgemein-biologische Grundlagen.

Der Begriff der natürlichen Art; die „reine Linie" als Gegenstand der experimentellen Variabilitäts- und Vererbungsforschung. Wenn wir uns experimentell mit der Veränderlichkeiten von Arten beschäftigen wollen, ist es nötig, daß wir uns über den Artbegriff im klaren sind. Wir müssen hierbei die natürlichen Arten und die Arten der Systematik scharf unterscheiden. Die Systematik, d. h. die lediglich beschreibende Wissenschaft, faßt den Artbegriff morphologisch-physiologisch. Sie bezeichnet als Art jede Vielheit von Individuen, die in ihren sichtbaren Eigenschaften innerhalb eines gewissen Spielraumes gleich sind, sich untereinander fortpflanzen und deren Nachkommen wiederum in einem gewissen Spielraum die gleichen Eigenschaften wie die Eltern besitzen. Der Begriff der natürlichen Art dagegen ist ein genetischer und in der Deszendenztheorie (1) begründet. Wir nehmen an, daß die jetzigen Arten sich aus anderen Arten, sogenannten Vorstufen, entwickelt haben und zwar, daß verwandte Arten aus gemeinsamen Vorstufen entstanden sind. Wir bezeichnen demnach als eine natürliche Art jeden „Stamm" von Individuen, der sich früher oder später von einer solchen gemeinsamen Vorstufe abgespalten und eine selbständige Entwicklungsrichtung eingeschlagen hat — oder kürzer gesagt: eine genetische Einheit von Individuen. Es ist ohne weiteres einleuchtend, daß als Endprodukte der phylogenetischen Entwicklung unter dem Einfluß ähnlicher Außenbedingungen viele äußerst ähnliche natürliche Arten entstehen können, welche dem systematischen Begriff einer einzigen Art entsprechen. Die systematische Art schließt also, wie besonders de Vries (3) und Johannsen (8) betont haben, ein Gemenge natürlicher Arten ein; sie stellt eine Kollektivart dar.

Bei sexuell sich fortpflanzenden Arten kann durch die Möglichkeit der Kreuzung mit verwandten Arten der Begriff der natürlichen Art auch durch Verwendung deszendenztheoretischer Gesichtspunkte nicht scharf umgrenzt werden (Plate, 7), während er bei asexuellen Arten, wie den Bakterien, sich relativ einfach präzisieren läßt; denn bei diesen ist eine Kreuzung verwandter Arten ausgeschlossen und die natürlichen Arten bleiben vom Zeitpunkt ihrer Entstehung an in sich geschlossen. Eine natürliche Art von Bakterien ist demnach eine Vielheit morphologisch-physiologisch übereinstimmender Individuen gleichen genetischen Ursprungs.

Die Erkenntnis, daß die Arten der Systematik ein Gemenge natürlicher Arten enthalten, ist für die experimentelle Variabilitäts- und Ver-

erbungsforschung von außerordentlicher Wichtigkeit. Denn es ist klar, daß wir zum Studium der Veränderlichkeit einer Art unbedingt Material einer einzigen natürlichen Art verwenden müssen, da sonst eine anscheinend erzielte Veränderung durch Eigenschaften einer anderen beigemischten Art verursacht werden kann. Auch eine durch Kreuzung verwandter Arten entstandene Art darf nicht verwendet werden, da sonst die Veränderungen in den Nachkommen auf Vererbung kombinierter Eigenschaften (den Mendelschen Gesetzen entsprechend) beruhen. Wir müssen also von einer natürlichen Art ausgehen, oder, wie Johannsen sagt, von einer „reinen Linie".

Eine solche reine Linie kann man sich bei Bakterien als absolute Reinkultur eines einzigen Stammes leicht durch das Burrische Tuscheverfahren oder mit genügender Sicherheit (Eisenberg, 16) durch wiederholte Plattenisolierungen gewinnen.

Beständigkeit der Arten. Unter natürlichen Bedingungen uud auch unter den Bedingungen des Experiments, falls sie den natürlichen entsprechen, erweisen sich die Arten als hochgradig beständig. Nicht nur alle Individuen der gleichen Generation, sondern auch die Individuen verschiedener Generationen haben innerhalb eines engen Spielraumes die gleichen Eigenschaften. Wir müssen demnach annehmen, daß die Artmerkmale durch irgendeine, allen Individuen der Art gemeinsame Ursache fixiert sind und bei der Fortpflanzung von den Eltern durch die gleiche Ursache auf die Nachkommen übertragen werden; die Artmerkmale werden „vererbt". Diese Vererbung geschieht bei den sexuellen Arten durch die Keimzellen, bei den asexuellen durch das „Soma" der Eltern unmittelbar oder allgemein gesagt: durch die „Vererbungssubstanz". Die Vererbung beruht auf der Kontinuität dieser lebenden Substanz, welche wir nach Nägeli (2) das „Idioplasma" der Art nennen. Das Idioplasma enthält sämtliche Artmerkmale in sich fixiert und überträgt sie auf die Nachkommen.

Da nun die Artmerkmale nicht als solche fertig ausgebildet und sichtbar vererbt werden, müssen sie in anderer Form im Idioplasma ursächlich enthalten sein; wir nehmen an, daß sie als „Anlagen" in der Vererbungssubstanz fixiert sind. Ohne uns eine nähere Vorstellung über die Struktur dieser Anlagen zu machen, können wir annehmen, daß die einzelnen Artmerkmale bestimmten Anlagen entsprechen und also die Erbmasse aus einzelnen Erbeinheiten zusammengesetzt ist. Die Erbeinheiten werden nach Johannsen u. a. Genen genannt, und zwar unterscheiden wir aktive und inaktive Genen (latente, Progenen), je nachdem sich die einzelnen Erbeinheiten in sichtbare Eigenschaften umsetzen oder nicht. Die Umwandlung der Anlagen in die Artmerkmale erfolgt aus inneren Gründen, nämlich aus der Tendenz der Anlage sich in normaler Weise zu entwickeln; denn die Artmerkmale werden in ihrer späteren Form schon angelegt, bevor sie durch adäquate äußere Reize hervorgerufen sein könnten (O. Hertwig, 4). Durch äußere Faktoren kann aber die Entwicklung der Anlagen gefördert oder gehemmt und auch in ihrer Richtung modifiziert werden. Es sind demnach bei der Entfaltung der Anlagen innere und äußere Faktoren von Bedeutung. Diese Tatsache spielt, wie wir sehen werden, bei der Mutation eine große Rolle.

Umbildung der Arten. Das Gesamtbild einer Art setzt sich aus den einzelnen Artmerkmalen oder Eigenschaften zusammen. Diese müssen wir, wenn wir Vergleichspunkte für die experimentelle Variabilitäts-

forschung gewinnen wollen, als scharf unterschiedene Einheiten betrachten. Nach de Vries unterscheidet sich eine Art von einer anderen durch mindestens eine solche Einheit. De Vries folgert in seiner Mutationstheorie weiter: „Auf dem Gebiete der Abstammungslehre führt dieses Prinzip zu der Ueberzeugung, daß die Arten nicht fließend, sondern stufenweise auseinander hervorgegangen sind.“ Wenn bei der phylogenetischen Artbildung die Stufen vermutlich auch nicht so groß waren, wie de Vries annimmt und eine mehr allmähliche „fluktuierende“ Entwicklung wahrscheinlicher ist, so ist dieses kein Beweis gegen die Annahme, daß „jede Variabilität diskontinuierlicher Natur ist“ (Plate). Denn jede Art ist von der nächst verwandten durch eine, wenn auch noch so geringfügige Eigenschaft scharf getrennt.

Eine solche neue Eigenschaft gewinnt Artcharakter dadurch, daß sie im Idioplasma als Anlage fixiert wird (O. Hertwig). Der Vorgang der Artumbildung wird also eingeleitet durch den Gewinn einer neuen Eigenschaft und zu Ende geführt durch Fixierung dieser neuen Eigenschaft im Idioplasma. Die Art der Fortpflanzung ist dabei nebensächlich, denn die Kontinuität des Idioplasmas ist bei sexueller und asexueller Fortpflanzung in gleicher Weise gewahrt.

Ursachen für die natürliche Artumbildung. Die Frage nach den natürlichen Ursachen der Artumbildung ist für die Beurteilung der Mutationserscheinungen von außerordentlicher Wichtigkeit, denn wie wir sehen werden, lassen sich Mutationserscheinungen regelmäßig durch äußere Faktoren herbeiführen. Es fragt sich demnach: welche Rolle spielen äußere Faktoren bei der Umbildung der Arten?

Die Beobachtung lehrt, daß die Artmerkmale deutliche Beziehungen zu adäquaten Reizen aufweisen; der Bau der Sehorgane z. B. wäre ohne den Einfluß von Lichtstrahlen unverständlich. Die Entstehung der Organe setzt aber eine in der lebenden Substanz selbst enthaltene Fähigkeit voraus, nämlich die Fähigkeit, auf äußere Reize zu reagieren und sich in Anpassung an äußere Reize im Sinne eines Fortschritts, d. h. unter Gewinn neuer Funktionen, zu differenzieren. Die Grundbedingung für die Erwerbung einer neuen Eigenschaft ist also die innere Fähigkeit und Tendenz der lebenden Substanz zur weiteren Entwickelung (Nägelis Prinzip der Progression). Diese Fähigkeit ist der innere wirkliche Grund für die Fortentwickelung der Arten. Zugleich spielen aber bei dem Gewinn neuer Eigenschaften äußere Reize eine wichtige Rolle. Denn die morphologische und funktionelle Entwicklung der Organe ist durch die Eigenschaften der adäquaten Reize, beim Auge z. B. durch optische Gesetze bestimmt. Man sieht also, daß äußere Faktoren bei der Erwerbung neuer Eigenschaften unbedingt nötig sind, auch wenn sie diese Eigenschaften nicht unmittelbar hervorrufen, sondern nur in ihrer Ausgestaltung modifizieren (R. Hertwig, 5).

Die neue Eigenschaft wird dadurch vererbt, daß das Idioplasma imstande ist, sie als Anlage in sich zu fixieren (O. Hertwig).

Wenn wir demnach eine Vererbung erworbener Eigenschaften als eine Grundbedingung für den Fortschritt der Arten unbedingt voraussetzen müssen, so gilt dies nur für solche Eigenschaften, die zwar in Anpassung an äußere Faktoren, aber auf Grund innerer Tendenzen entstanden sind und nicht für solche Eigenschaften und Veränderungen, die beliebig durch äußere Reize allein bewirkt werden können.

Grundformen der Variabilität. Die Variabilität einer reinen Linie zeigt in der Art und Weise, wie sie äußerlich in Erscheinung tritt,

regelmäßig wiederkehrende Gesetzmäßigkeiten, welche es ermöglichen, verschiedene Formen der Variabilität scharf voneinander zu trennen.

Beijerinck (10) gibt folgende Einteilung der Variabilität bei Mikroben: Modifikation, Fluktuation, Mutation und Kombination. Ich schließe mich dieser Einteilung im wesentlichen an, da sie alle Möglichkeiten erschöpft und vor allem, da sie unseren Begriffen von der natürlichen Artbeständigkeit und -umbildung gerecht wird. Die einzelnen Begriffe möchte ich allerdings zum Teil anders fassen.

1) Die Modifikation („Somation" Plate): Unter dem Einfluß äußerer Bedingungen ändert sich eine Eigenschaft und geht bei Wegfall dieser Bedingungen rasch wieder zurück. Diese Veränderung entspricht der Fähigkeit einer Gene, auf verschiedene äußere Reize verschieden zu reagieren, ohne sich selbst zu verändern. Die Reaktionsweise, welche allein für die Art charakteristisch ist, ändert sich dabei nicht (Baur). Das Idioplasma wird von der Modifikation nicht ergriffen, die Modifikation ist also nicht erblich und führt nicht zur Ueberschreitung der Artgrenzen.

2) Die Fluktuation: In deutlicher Beziehung zu äußeren Einflüssen entsteht eine erbliche Veränderung einer Art. Die Fluktuation entspricht dem wirklichen Gewinn neuer, oder dem Verlust vorhandener Artmerkmale, sie führt also zur Umbildung der Arten. Den Gewinn von Artmerkmalen kann man als progressive Fluktuation bezeichnen. Diese entspricht dem phylogenetischen Fortschritt, ist aber experimentell bis jetzt nicht erzielt worden. Der Verlust von Artmerkmalen wäre dementsprechend eine retrogressive Fluktuation; diese ist als sogenannte Degeneration eine bei Bakterien oft zu beobachtende Erscheinung (Beijerinck) und leicht experimentell zu erzielen; sie stellt sich sogar meist unbeabsichtigt ein.

3) Die Mutation: Anscheinend spontan und plötzlich tritt im Verlauf einer bestimmten Kulturgeneration eine Veränderung auf, welche nur einen Teil der Nachkommen ergreift und in diesem bei weiterer Uebertragung keine Steigerung mehr erfährt. Je nachdem die Veränderung eine scheinbar neue Eigenschaft oder den Verlust einer schon vorhandenen Eigenschaft mit sich bringt, können wir zwischen progressiver (in Wirklichkeit jedoch degressiver) und retrogressiver Mutation unterscheiden. Die Veränderung ist erblich; nur unter gewissen Bedingungen treten Rückschläge in den Ausgangstypus auf, welche ebenso plötzlich verlaufen wie die primäre Mutation.

4) Die Kombination: Durch sexuelle Fortpflanzung zweier artverschiedener Eltern entsteht eine erbliche Verschiedenheit der Nachkommen gegenüber den Eltern. Diese durch Bastardierung entstandene Variation richtet sich nach den Mendelschen Gesetzen und stellt, wie Baur und Schinz zuerst hervorgehoben haben, eine eigene Form der Variation dar. Zur Entstehung neuer Genen führt sie aber nicht (de Vries, Beijerinck). Für Bakterien kommt sie, da sich diese asexuell fortpflanzen, nicht in Betracht.

II. Experimenteller Teil: Die Mutation des Friedländerschen Pneumoniebacillus.

Meine Beobachtungen beziehen sich auf 2 Stämme des Friedländerschen Pneumoniebacillus. Veränderungen dieses Bakteriums werden schon früher von Kruse (11) und Wilde (12) beschrieben. Diese Autoren stellten fest, daß man bei Aussaat von alten Kulturen auf Gelatineplatten neben den typischen Kolonien auch atypische coliähnliche

erhält (Wilde), sowie, daß alte Laboratoriumskulturen ihr Schleimbildungsvermögen verlieren, wobei die ursprünglich kurzen dicken Stäbchen schlank werden und sich von Coli-Bacillen nicht mehr unterscheiden lassen (Kruse). Die Form der Variabilität und ihre Bedeutung für die Artbeständigkeit konnte aber damals von den Verfassern noch nicht analysiert werden. In neuerer Zeit hat Baerthlein in seinen Mitteilungen über Mutationserscheinungen kurz angegeben, daß er auch bei Kapselbacillen Mutationserscheinungen beobachtet hat. Nach den Mitteilungen Baerthleins hat auch Gildemeister ähnliche Beobachtungen gemacht.

Der Friedländersche Pneumoniebacillus ist ein sehr geeignetes Bakterium zur Beobachtung sämtlicher Formen der Variabilität, und zwar aus dem Grunde, weil er auf allen Nährböden üppig gedeiht, lange lebensfähig bleibt, leicht konstant zu halten ist und weil sich die Veränderungen der einzelnen Individuen auch makroskopisch, d. h. im Aussehen der Kultur, bemerkbar machen. Ich möchte jedoch an dieser Stelle nur auf die Mutation ausführlich eingehen und die Erscheinung der Modifikation und Fluktuation nur soweit berücksichtigen, als sie durch ihr gegensätzliches Verhalten das Verständnis der Mutation fördern. Zuvor möchte ich kurz das typische Verhalten dieses Bakteriums beschreiben, soweit es zum Verständnis der Variabilitätserscheinungen unbedingt nötig ist.

Normaler Typus. Der eine Stamm ist aus dem Sputum einer letal endigenden Friedländer-Pneumonie in hiesiger Klinik (cf. Münch. med. Wochenschr. 1911. No. 49), der andere aus dem Eiter bei Otitis media (Klinik Professor Scheibe) gewonnen. Der Bacillus ist ein dickes kurzes Stäbchen, nach der Teilung kokkenförmig, im Tierkörper von einer breiten Kapsel umgeben. Der Pneumoniestamm besitzt auch in den künstlichen Nährböden eine breite Kapsel (wenn man die lebenden Bacillen mit dem Tuscheverfahren untersucht, cf. Fig. 1). Der Bacillus zeigt sich dabei zunächst von einer hellen, schmalen Schicht umgeben; auf diese folgt eine sehr viel breitere, äußere Hülle. Letztere geht in älteren Kulturen vermutlich autolytisch (zugleich mit der schleimigen Konsistenz des Bakterienrasens) verloren, ohne daß dadurch die Lebensfähigkeit der Bakterien eine Einbuße erleidet. Sie ist demnach kein eigentlicher, d. h. lebenswichtiger Bestandteil des Bakterienleibes. Die den Bacillus zunächst umgebende schmale innere Zone bleibt jedoch auch in alten Kulturen, solange Bakterien darin morphologisch nachzuweisen und lebensfähig sind, erhalten, gehört also zum Bakterienleib. Die Bedeutung dieser einzelnen Gebilde ergibt sich aus folgender, jetzt von den meisten Forschern geteilten Anschauung über die Morphologie des Bakterienleibes: der Bakterienleib besteht aus dem Endoplasma, welches Kernbestandteile und Plasma innig gemischt, noch nicht gegeneinander differenziert, enthält und aus dem Ektoplasma, welches eine Hülle um das Endoplasma bildet. Uebertragen wir dies auf unsere Beobachtung, so haben wir in dem Bacillus selbst das Endoplasma zu sehen, während die ihn umgebende, im Tuschepräparat als helle, schmale Zone erscheinende Substanz dem Ektoplasma entspricht. Ich habe auf diese schmale, innere Zone der Kapsel schon in einer früheren Arbeit (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. p. 23) hingewiesen. Herr Professor Heim machte mich darauf aufmerksam, daß nur diese schmale Zone dem echten Ektoplasma entspricht. Ich schließe mich auf Grund meiner Befunde vollkommen seiner Ansicht an. Die breite äußere Schicht

der Kapsel jedoch, die „Schleimhülle", haben wir lediglich als Absonderungsprodukt aufzufassen. Wenn im folgenden von Kapsel gesprochen wird, so ist damit stets nur diese Schleimhülle verstanden.

Die Schleimhülle besteht aus einer in Wasser außerordentlich quellbaren Substanz; es handelt sich, soviel ich aus den bis jetzt angestellten chemischen Untersuchungen folgern kann, um kein echtes Mucin, überhaupt keinen Eiweißkörper, sondern wahrscheinlich um ein höhermolekulares Kohlehydrat. Lediglich durch Aufquellung der Bakterienmembran, also durch einen rein physikalischen Prozeß, entsteht die Kapsel nicht. Denn die Kapselsubstanz stellt einen eigenen Körper für sich dar, der sich durch seine Färbbarkeit leicht vom nicht färbbaren Ektoplasma unterscheidet.

Der Färbung gegenüber verhalten sich die Bacillen folgendermaßen: Fixiert man durch Hitze und färbt mit Methylenblau, so erscheinen die Bacillen von einer violetten, unregelmäßig und unscharf begrenzten Hülle, der Schleimhülle, umgeben (cf. Fig. 2). Die Bacillen selbst sind tief blau gefärbt, doch färbt sich das Endoplasma nicht homogen. Es zeigt nur eine scharfe, stark gefärbte Grenze und ist im übrigen sehr schwach gefärbt. In seinem Inneren enthält es ein ovales oder längliches, stärker gefärbtes Gebilde. Ich möchte dieses Gebilde nicht als Kern des Bakteriums bezeichnen, obwohl es mit den von manchen Autoren in letzter Zeit als Kern beschriebenen Gebilden (Douglas und Distaso, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66) identisch zu sein scheint, sondern nur als Chromatinsubstanz des Endoplasmas auffassen. Diese feineren morphologischen Verhältnisse zeigen sich besonders deutlich, wenn man durch Sublimatfixierung in eiweißhaltiger Flüssigkeit die Schrumpfung der Kapsel verhindert (cf. Fig. 3).

Der Pneumoniestamm bildet auf dem Schrägagar einen sehr üppigen und erhabenen, fast farblosen, d. h. homogen grauen und saftig glänzenden Bakterienrasen. Der Bakterienrasen besteht zum größten Teil aus der reichlich gebildeten, sehr viskösen Kapselsubstanz und hat dadurch zähschleimige Konsistenz. Man kann mit der Platinöse die Bacillen in langen, zusammenhängenden Fäden von dem Rasen abziehen. Die schleimige Kapselsubstanz läßt sich durch ihr färberisches Verhalten — sie färbt sich mit Methylenblau im Gegensatz zu den blau erscheinenden Bacillen violett („metachromatisch") — in jedem Falle, wenn sie auch nur in geringen Mengen vorhanden ist, leicht nachweisen. Der Otitis-Stamm bildet auf den künstlichen Nährböden weniger Bakterienschleim, dementsprechend auch weniger breite Kapseln. Der Bakterienrasen ist also nicht so üppig und erhaben wie bei dem Pneumoniestamm, sondern flach, aber auch konfluierend, saftig glänzend und homogen grau durchscheinend.

Konstanthalten der Kulturen. Die Kulturen des typischen Friedländer-Bacillus sind für lange Zeit konstant zu halten, wenn man in nicht allzu großen Zwischenräumen (1—3 Wochen) auf Agarplatten (Plattenguß) oder in Bouillon überträgt (Zusammensetzung der Nährböden cf. Heim, Bakteriologie. Der Agar enthält 2 Proz. Glyzerin). In kurzen Zwischenräumen vorgenommene Uebertragungen erhalten den Typus noch sicherer unverändert, doch ist dieses Verfahren natürlich mühevoller und gar nicht nötig, wenn hie und da (z. B. alle 2—3 Monate) einmal Tierpassagen eingeschoben werden. Auf dem Schrägagar tritt dagegen auch bei Uebertragung in kurzen Zwischenräumen (24^{h}) ziemlich bald, bei Uebertragung in größeren Zwischenräumen

in noch früheren Kulturgenerationen eine Veränderung des Typus ein. Läßt man die Kulturen auf dem Schrägagar längere Zeit unübertragen stehen, so gehen sie bei der ersten neuen Uebertragung wieder typisch an, auch wenn sie ziemlich alt sind, und zwar bis zu mehreren Monaten; wenn das Wachstum still steht, vertragen also die Bacillen den Aufenthalt auf künstlichen Nährböden lange Zeit ohne Veränderung: erst bei weiteren Uebertragungen treten rasch Veränderungen ein. Die Kulturen sind aber durch Tierpassagen, wenn die Veränderungen eben erst beginnen, leicht wieder typisch zu erhalten. Das bequemste Verfahren zur Erhaltung des normalen Typus ist demnach folgendes: eine frische normale Kultur auf Schrägagar kann 4—8 Wochen unübertragen stehen bleiben. Sie wird dann neu übertragen und nach eingetretenem üppigen Wachstum (24—48^h) durch die Maus geschickt. Zur Infektion ist nur sehr wenig nötig. Aus dem Herzblut der Maus erhält man mit Sicherheit eine typische Kultur, welche wieder 4—8 Wochen unübertragen stehen bleiben kann.

Die Erscheinungen der Variabilität: Modifikation und Fluktuation. Die Modifikation ist besonders leicht am Otitis-Stamm zu beobachten. Dieser bildet im Tierkörper breite, metachromatisch färbbare Kapseln, auf künstlichen Nährböden nur sehr schmale Kapseln. Bei dem Pneumoniestamm ist eine Modifikation durch Temperatureinflüsse zu erzielen. Durch Kultivierung bei niederen Temperaturen (8—11°) wird die Schleimhülle nicht gebildet (wie Beham schon bei Kapselbacillen beobachtet hat), bei Einwirkung höherer Temperatur (37°) tritt die Bildung des Bakterienschleims sofort wieder ein. Bei der Modifikation ändert sich also in vollkommener Abhängigkeit von äußeren Einflüssen und gleichzeitig die Bildung der Schleimhülle. Die Veränderung beruht darauf, daß eine Anlage (das „Viscoplasma" Beijerinck) entsprechend ihrer Reaktionsfähigkeit auf äußere Reize den Wechsel in den äußeren Bedingungen durch Abänderung des Anlageproduktes (O. Hertwig) beantwortet, ohne sich dabei selbst zu ändern. Die Veränderung ist deshalb auch nicht erblich.

Fluktuation. Die Fluktuation war nur als retrogressive Fluktuation, als sogenannte „Degeneration" zu beobachten. Man erhält sie, wenn man den Bacillus dauernd auf künstlichen Nährböden ohne Einschiebung von Tierpassagen kultiviert. Man muß dabei stets von typisch gebliebenen Stellen der Kultur (Agar), d. h. von solchen Partien, welche nicht durch die noch zu schildernde Mutation verändert sind, abimpfen. Der Bacillus bildet dann in den folgenden Generationen immer schmälere Kapseln, die Kultur wird dementsprechend flach, ist nicht mehr fadenziehend, sondern butterartig. Die Fähigkeit der Kapselbildung geht auf diese Weise im Verlauf von 2—3 Monaten vollkommen verloren, und ist auch durch Bedingungen, welche der Kapselbildung am günstigsten sind, nämlich durch das Wachstum im Tierkörper (bis jetzt 20 Tierpassagen) nicht wieder herzustellen. Man muß also annehmen, daß durch die retrogressive Fluktuation eine Anlage, das Viscoplasma, dauernd (wenigstens für die Grenzen des Experiments) verloren gegangen ist. Das Endoplasma jedoch wird durch die Fluktuation nicht sichtbar verändert. Es bleibt als breites Stäbchen erhalten. Da die Kapselsubstanz wegfällt, tritt im gefärbten Präparat (Methylenblau) die schlechte Färbbarkeit des Endoplasmas noch deutlicher als beim normalen Typus hervor. Man sieht deshalb ziemlich plumpe, scharf begrenzte, säckchenförmige Gebilde, welche in ihrem Inneren fast farblos sind und als ge-

färbten Bestandteil nur den beschriebenen ovalen oder kugeligen Zentralkörper enthalten (cf. Fig. 4).

Wir wenden uns jetzt zur Erscheinung der Mutation.

Gewinnung der Mutante. Die beiden untersuchten Stämme verhielten sich hinsichtlich der Mutation und der Rückschläge im wesentlichen gleich; die Einzelheiten der folgenden Beobachtungen beziehen sich jedoch auf den Pneumoniestamm. Die Mutation war folgendermaßen zu erzielen. Läßt man Kulturen, die ursprünglich ganz rein und typisch gewachsen waren, längere Zeit (mindestens 6—8 Wochen lang) unübertragen bei Zimmertemperatur stehen, und sät dann auf Agarplatten (Plattenguß) aus, so erhält man zwei verschiedene Arten von Kolonieen. Die meisten sind typisch geblieben, d. h. sehr üppig, nach 2 Tagen bis über 1 cm im Durchmesser, schleimig fadenziehend, die anderen jedoch klein, flach, weißlich und nicht fadenziehend. Diese entsprechen den mutierten Kolonieen und bestehen aus schlanken kapsellosen Stäbchen.

Beschleunigung der Mutation. Man kann jedoch die gleiche Umwandlung des Friedländerschen Bacillus auch in kurzer Zeit erhalten, wenn man den Bacillus im zusammenhängenden Bakterienrasen (auf dem Schrägagar) wachsen läßt und in mehrtägigen Zwischenräumen überträgt. Eine solche Serie verläuft dann folgendermaßen: Die ersten Kulturgenerationen wachsen meist noch ganz typisch, d. h. als homogen grauer, konfluierender Rasen, plötzlich aber treten in einer der folgenden Kulturgenerationen am Rande des Bakterienrasens weißliche, scharf abgegrenzte Sektoren auf. Diese bestehen zum größten Teile aus stark veränderten kapsellosen Stäbchen, und enthalten nur wenig normal gebliebene Bacillen. Die veränderten Bacillen heben sich im gefärbten Präparat (Methylenblau) sehr deutlich von den normalen ab (cf. Fig. 5); sie fallen als helle Gebilde gegenüber den dunkelgefärbten normalen Individuen auf, da sie nicht mehr von der violett erscheinenden Schleimhülle umgeben sind; sie bestehen aus dicken, oft unscharf konturierten Stäbchen, die in ihrem Innern fast farblos sind und ein rundes oder ovales Gebilde (vermutlich die geschrumpfte Chromatinsubstanz) enthalten. Sie gleichen morphologisch fast vollkommen der durch Fluktuation entstandenen Form. Impft man von diesen ersten Sektoren ab, so erhält man einen flachen weißen Bakterienrasen mit wenigen, durchscheinenden grauen Inseln. Diese bestehen aus den sehr in der Minderzahl vorhandenen, normal gebliebenen Bacillen. Der ganze übrige Bakterienrasen besteht aus schlanken, kapsellosen Stäbchen. Die vorhin beschriebenen Formen finden sich nicht wieder. Diese Erscheinung findet ihre Erklärung in folgendem:

Von der oben geschilderten, ersten mutierenden Kultur wird die nächste angelegt, indem von einer typisch gebliebenen Stelle des Bakterienrasens abgeimpft und auf den nächsten Schrägagar übertragen wird; auf diese Weise wird die Serie fortgesetzt, indem jedesmal von einer nicht mutierten Stelle der letzten Kultur die folgende angelegt wird.

Man beobachtet dann, daß die Bildung der weißen Sektoren in der folgenden Kultur immer rascher eintritt und zunimmt, bis die Sektoren an der Peripherie zu einem weißen breiten Rand zusammenfließen. Dies ist meist im Verlauf der 6.—10. Kulturgeneration der Fall. Dann treten auch im Innern des ursprünglich homogen grauen Bakterienrasens weiße Inseln auf.

Untersuchen wir die weißen Sektoren dieser späteren Kulturgenerationen, so finden wir, daß sie aus schlanken, kapsellosen Stäbchen bestehen und außerdem nur wenig normal gebliebene Bacillen enthalten (cf. Fig. 6). Diese schlanken Stäbchen verändern sich bei den nächsten Uebertragungen nicht weiter. Sie sind also das Endprodukt der Mutation. Sie entstehen in den späteren Kulturgenerationen aus dem ausgesäten typischen Material im Laufe einer einzigen Kulturgeneration und stimmen morphologisch vollständig mit den Stäbchen überein, welche aus den eigentümlichen Formen der ersten mutierenden Kultur entstanden, wenn man diese noch einmal übertrug. Man sieht daraus, daß die in der ersten mutierenden Generation auftretenden Gebilde nur Uebergangsformen waren, welche bei erneuter Uebertragung das Endstadium der Mutation erreichen.

Bildung der Sektormutanten. Der zeitliche Ablauf der Mutation erklärt die Bildung der Sektormutanten. Durch den Agarstrich ist stets typisches Material übertragen worden. Dieses wächst zunächst auch typisch als ein Bakterienrasen, der dem Bereich der Impfung entspricht. Später verbreitet sich der Rasen nach allen Richtungen und an einem oder mehreren Punkten der Peripherie setzt zu einer gewissen Zeit die Mutation ein. Da aber das Wachstum noch weiter geht und die mutierte Partie in gleicher Richtung mit den übrigen normal gebliebenen Partien, d. h. radiär sich ausbreitet, entsteht eine in Sektorform sich abhebende, gegen den typischen Rasen veränderte Partie, eine sogenannte Sektormutante. Je nachdem die Mutation eher oder später beginnt, reicht der Sektor tief bis in die Mitte des Bakterienrasens oder er ist, wenn das Wachstum der Kultur schon kurz nach dem Eintritt der Mutation aufhört, nur als schmaler weißer Streif an der Peripherie angedeutet.

Der Erfolg des geschilderten Verfahrens läßt sich also kurz dahin zusammenfassen: Durch das Wachstum im zusammenhängenden Bakterienrasen, d. h. auf dem Schrägagar und durch Uebertragung in mehrtägigen Zwischenräumen läßt sich die Mutation bei Verwendung junger typischer Kulturen in kurzer Zeit (6—10 Tagen) herbeiführen und in ihrem Beginn beobachten, während zur Gewinnung der Mutante durch Plattenguß mehrere Monate alte Kulturen erforderlich sind und nur das Endprodukt der Mutation sichtbar wird.

Prämutationsphase. In all diesen Versuchen erhielten wir die Mutation als eine plötzliche „sprunghafte“ Veränderung, denn sie trat in einer bestimmten Kulturgeneration ein, ohne daß die Individuen, von denen die Kultur stammte, eine Aenderung gezeigt hatten. Trotzdem vollzieht sich die Mutation nicht ohne wirkliche Uebergänge. Wir müssen vielmehr auf Grund der geschilderten Versuchsreihe annehmen, daß der Mutation eine latente Prämutationsphase vorausgeht (wie sie de Vries auch für die Mutation der Pflanzen annahm). Wir legten nämlich jede Kultur der Serie aus der vorhergehenden so an, daß wir von typisch gebliebenen Stellen abimpften. Dabei ergab sich, daß die Mutation in den ersten Kulturgenerationen noch ausblieb, in einer späteren begann, aber nicht zu Ende kam und erst in noch späteren Kulturgenerationen rasch genug verlief, um in der gleichen Kultur ihr Endstadium zu erreichen. Diese Unterschiede im Eintritt und Verlauf der Mutation waren zu beobachten, obwohl das zur Aussaat der verschiedenen Kulturen verwendete Material in allen Fällen bei der mikroskopischen Untersuchung in gleicher Weise typisch war. Es muß dem-

nach der normale Bacillus im Verlaufe der späteren Generationen schon vor dem sichtbaren Eintritt der Mutation latent in zunehmendem Grade verändert und für die Mutation vorbereitet worden sein: er ist in die Prämutationsphase eingetreten. Ist diese Prämutationsphase einmal eingeleitet, so läßt sich, auch wenn das Ausgangsmaterial irgendeiner Kultur bei der mikroskopischen Untersuchung noch gar keine sichtbare Aenderung zeigt, die Mutation im Verlauf von 24 Stunden herbeiführen.

Eigenschaften der Mutante: Beständigkeit und Rückschläge. Aus den beschriebenen Sektoren, welche noch ein Gemenge von typischen und umgewandelten Bacillen enthalten, lassen sich die mutierten Keime durch Plattenguß in Reinkultur gewinnen. Man erhält dann eine auffallend vom normalen Typus abweichende Variante: schlanke Stäbchen ohne jede Spur von Kapsel, welche vollkommen Colibacillen gleichen. Sie besitzen nur ein sehr schmales Ektoplasma. Das Endoplasma ist im Gegensatz zum Typus homogen und gut färbbar (cf. Fig. 7). Die Kolonien auf Agar sind klein, flach, weißlich-grau, nicht schleimig fadenziehend.

Die Veränderung ist im hohen Grade erblich, sie hat sich bis jetzt im Zeitraum von fast 2 Jahren bei der üblichen Art der Uebertragung (alle 1—4 Wochen) ganz konstant erhalten.

Trotzdem läßt sich feststellen, daß unter gewissen Bedingungen regelmäßig Rückschläge in den normalen Typus eintreten. Ich hatte, da ich die Mutationsform in jedem Monate mindestens einmal von neuem auf Agar übertrug, und mir von jedem Monat im letzten Jahre mindestens eine Kultur aufhob, eine ununterbrochene Serie verschieden alter Kulturen, welche einen geschlossenen Stammbaum bildeten. Sämtliche Kulturen waren ursprünglich rein als Mutante gewachsen. Eine Beimischung des normalen Typus läßt sich mit Sicherheit ausschließen, da dieser sehr üppig auf Agar wächst und sich dadurch sofort bemerkbar macht (die Mutante eventl. überwuchert). Als ich nun ältere Kulturen, um sie auf ihre Lebensfähigkeit zu prüfen, neu übertrug, zeigte sich, daß die Kulturen von einem gewissen Alter ab (mindestens 6—8 Wochen) Rückschläge in den normalen Typus zeigten. Die Kultur auf dem Schrägagrar wächst dann wieder schleimig-fadenziehend, aber nicht homogen-grau wie bei dem normalen Typus, sondern mit weißlichen Streifen und Flecken (den unveränderten Mutanten entsprechend) durchsetzt. Mikroskopisch zeigt eine solche Kultur neben unveränderten Mutanten reichlich Individuen des normalen Typus (cf. Fig. 8). Daß der Rückschlag nicht schon in den alten Kulturen eingetreten war, geht daraus hervor, daß diese für die Maus avirulent sind, während bedeutend ältere Kulturen des normalen Typus ihre Virulenz nicht eingebüßt haben.

Die letzte auf die Fähigkeit zum Rückschlag gerichtete Untersuchung (März 1913) hat ergeben, daß die Kulturen einer im September 1911 beginnenden Mutationsserie sich folgendermaßen verhalten: Kulturen vom Juli 1912 sind abgestorben, Kulturen vom August, September und Oktober 1912 schlagen jetzt zurück, die Kulturen vom November 1912 ab gehen unverändert als Mutante an. Kontrolliert man die Erscheinung des Rückschlags durch Plattenguß, so zeigt sich, daß meist der größere Teil der Kolonien wieder als Mutationsform, d. h. wieder in flachen, weißen, kleinen Kolonien wächst, der andere nicht unbeträchtliche Teil jedoch in den Typus zurückgeschlagen ist und die beschriebenen großen schleimigen Kolonien bildet. Dieser Rückschlag

tritt entweder gleich in der ersten Generation vollkommen ausgebildet in Erscheinung (cf. Fig. 8) oder er bleibt auch bei fortgesetzter Uebertragung aus. In Kulturen, welche jünger als 4—6 Wochen waren, schlug die Mutationsform auf Agar nie in den normalen Typus zurück, wohl aber lassen sich durch Tierpassagen auch frische Kulturen der Mutante in den normalen Typus zurückführen. Der Rückschlag ist hierdurch regelmäßig zu erzielen, tritt aber oft erst nach der 3.—4. Passage ein, und ist dann mit einem Schlag fertig ausgebildet. Wir müssen demnach annehmen, daß der Rückschlag ebenso wie die primäre Mutation von einer latenten Prämutationsphase eingeleitet wird, und zwar in alten Agarkulturen schon bevor die neue Uebertragung stattfindet. Der Rückschlag findet auf Agar wie im Tierkörper ebenso plötzlich statt wie die primäre Mutation.

Die Fähigkeit zum Rückschlag ist bei der Mutante besonders deshalb auffallend, weil die Mutante bedeutend mehr vom Typus abweicht als die nicht zum Rückschlag befähigte Fluktuante. Diese Erscheinung erklärt sich aus dem Wesen der Mutation (cf. später.

III. Schlussfolgerungen.

Welche Schlußfolgerungen können wir auf Grund der experimentellen Beobachtung hinsichtlich des Wesens und der biologischen Bedeutung der Mutation ziehen? Bevor ich diese Frage näher erörtere und meinen Standpunkt begründe, muß ich auf die Entwickelung und bisherige Gestaltung des Mutationsbegriffes näher eingehen.

Die Erscheinung der Mutation wurde zuerst von de Vries an einer Pflanze (Oenothera Lamarckiana) beobachtet. Ob die von de Vries entdeckte Variabilität dieser Pflanze lediglich auf Bastardierungserscheinungen beruht, wie einige annehmen, möchte ich auf Grund seiner Angaben über die Vererbung und Rückschläge nicht glauben; es handelt sich m. E. doch wohl um Mutationen oder zum mindesten um Beimischung echter Mutationserscheinungen. Bei der Züchtung der Nachtkerze fand de Vries, daß ein Teil der Nachkommen „spontan“ mehr oder weniger vom Typus abweichende Eigenschaften zeigte, während der größte Teil unter gleichen Außenbedingungen unverändert blieb. Die Veränderungen entstanden sprunghaft, ohne Uebergänge und waren erblich. Nur ein Teil der veränderten Rassen schlug wieder in späteren Generationen in den Ausgangstypus zurück. De Vries nannte diese Form der Variabilität „Mutation“ und glaubte, daß es sich hier um einen aus inneren Gründen erfolgenden Gewinn wirklich neuer Eigenschaften handelte. Er hielt deshalb die Mutation für die Quelle der Artbildung. Bei dem Bestreben, weitere ähnliche Erscheinungen in der Natur zu finden, konnte de Vries feststellen, daß die Mutationen gar nicht so selten sind. Die meisten dieser Mutationen machten jedoch den Eindruck des Verlustes von Artmerkmalen. Dementsprechend unterschied de Vries zwischen progressiven und retrogressiven Mutationen. Nun zeigten aber auch die retrogressiven Mutationen regelmäßig die Fähigkeit zu Rückschlägen. De Vries mußte also annehmen, daß bei der retrogressiven Mutation Eigenschaften nicht wirklich verloren gehen, sondern nur latent werden. Zugleich ließ er aber die Vorstellung, daß die progressiven Mutationen einen wirklichen Gewinn neuer Eigenschaften mit sich bringen, nicht fallen. Er vereinigte dadurch in dem Begriff der Mutation zwei Dinge, die nach dem Stande der jetzigen Vererbungsforschung wesensverschieden sind;

denn der Gewinn neuer Eigenschaften auf Seite der progressiven Mutation müßte auf Seite der retrogressiven dem Verlust von Eigenschaften entsprechen, nicht aber dem Latentwerden. So wurde der Begriff der Mutation nicht einheitlich. Dazu kommt noch, daß die spätere Forschung erwiesen hat, daß die von de Vries beschriebene Mutation keine wirklich neuen Artmerkmale mit sich bringt (cf. später).

Auf diese Weise ist die zurzeit herrschende Uneinigkeit über den Begriff der Mutation entstanden. Die einen der Autoren schließen sich der theoretischen Fassung des Mutationsbegriffes an und lassen als Mutation nur diejenige Form der Variabilität gelten, welche den Gewinn neuer Artmerkmale mit sich bringt (Baur, Plate), die anderen aber bezeichnen als Mutation die von de Vries tatsächlich beobachtete und in ihren Erscheinungen genau analysierte Form der Variabilität (Neisser und Massini, Reiner Müller, Beijerinck, Baerthlein, Eisenberg). Ich schließe mich den letztgenannten Autoren an, denn ich halte es für richtiger, der Beobachtung den Vorzug vor der Theorie zu geben und möchte die von de Vries in seinen grundlegenden Versuchen zuerst beobachtete und als Mutation bezeichnete Form der Variabilität auch weiterhin als Mutation bezeichnen, selbst wenn sie dem von ihrem Entdecker theoretisch aufgestellten Begriff der Artneubildung nicht entspricht. (Die Quelle der Artneubildung ist vielmehr, wie kurz eingangs erwähnt, die Fluktuation.)

Uebertragung des Mutationsbegriffes auf die Bakteriologie. Der Begriff der Mutation wurde von Neisser und Massini (13) in die Bakteriologie eingeführt und in der Folgezeit von vielen Autoren zur Bezeichnung einer gewissen Form der Variabilität bei Bakterien verwendet. Dies geschah meines Erachtens mit vollem Recht; denn die Mutationserscheinungen der Bakterien zeigen die gleichen Gesetzmäßigkeiten wie die der höheren Pflanzen. Auch ist der Einwand, daß die Mutation eine Form der Variabilität sexueller Arten ist und deswegen auf Bakterien nicht übertragen werden darf, nicht stichhaltig; denn der Mutationsvorgang ist von der Art der Fortpflanzung unabhängig. Diese kommt nur für die Kombination, die Bastardvariierung, in Betracht. Ebenso ist der Einwand, daß sich die mit der Mutation verknüpften morphologischen Aenderungen bei Bakterien wegen der Einfachheit der Bakterienform nicht feststellen lassen, als widerlegt zu betrachten; denn die Mutation kann sehr auffallende Veränderungen der Morphologie mit sich bringen. Allerdings ist es möglich, daß sich Mutationen bei Bakterien auch ohne erkennbare morphologische Veränderungen vollziehen.

Aeußerlich sichtbare Gesetzmäßigkeiten der Mutation. Ausgehend von der de Vriesschen Beobachtung nennen wir bei Bakterien eine Veränderung dann Mutation, wenn sie folgendermaßen in Erscheinung tritt:

1) Die Veränderung tritt plötzlich auf, d. h. nachdem die vorausgegangenen Generationen anscheinend noch ganz typisch waren, ist in einer bestimmten Generation die Veränderung ohne Uebergänge vollkommen ausgeprägt und erfährt vom Augenblick ihrer Entstehung an keine weitere Steigerung mehr. Bei Bakterien können wir zunächst eine Veränderung dann als sprunghaft bezeichnen, wenn sie im Verlauf einer einzigen Kulturgeneration erfolgt (Kruse).

2) Die Veränderung tritt anscheinend spontan auf, d. h. ein Teil der Nachkommen wird ohne ersichtliche Aenderung der Außenbedin-

gungen von der Mutation ergriffen, während der größere Teil unter den gleichen Außenbedingungen typisch bleibt. Dadurch macht die Mutation auch den Eindruck des Richtungslosen, d. h. sie zeigt sich nicht in erkennbarer Weise von den Außenbedingungen in ihrer Richtung beeinflußt.

3) Die Veränderung ist bei der üblichen Art der Uebertragung erblich und bleibt auch ohne weitere Einwirkung der Bedingungen bestehen, welche zu ihrer Herbeiführung nötig waren (im Gegensatz zur Modifikation).

4) Unter gewissen Bedingungen erfolgen regelmäßig Rückschläge in den normalen Typus, welche sich ebenso plötzlich, spontan usw. vollziehen, wie die primäre Mutation (im Gegensatz zur Fluktuation). Die Mutation ist also eine sehr charakteristische Form der Variabilität. Praktisch tritt sie derart in Erscheinung, daß bei Aussaat einer Reinkultur gleicher Individuen in der nächsten Kulturgeneration verschiedene Kolonieen aufgehen, wobei meist der größere Teil unverändert geblieben ist, während der kleinere Teil sich abweichend vom Typus verhält. Bei weiteren Uebertragungen erweisen sich diese Veränderungen als konstant und erblich, schlagen aber unter gewissen Bedingungen regelmäßig in den Ausgangstypus zurück.

Die meisten Mutationen sind retrogressiv. Sie machen den Eindruck des Verlustes bestimmter Eigenschaften. Der regelmäßig zu erzielende Rückschlag beweist aber, daß die betreffenden Eigenschaften nicht wirklich verloren gegangen, sondern nur latent geworden sind. Ebensowenig beweisen die sogenannten progressiven Mutationen den Gewinn wirklich neuer Eigenschaften; daß die dabei zutage tretenden Eigenschaften wirklich neu sind, und nicht schon früher einmal vorhanden waren, ist erstens kaum zu beweisen und zweitens ist es dem ganzen Verlauf des Vorganges nach wahrscheinlicher, daß das Auftreten einer anscheinend neuen Eigenschaft bei der sogenannten progressiven Mutation identisch ist mit dem Rückschlag einer Verlustmutation in den Ausgangstypus, wobei ja auch plötzlich eine Eigenschaft neu erscheint. Wir können demnach nicht von einer wirklich progressiven Mutation sprechen; denn progressiv ist eine Veränderung nur, wenn sie ein wirklich neues Artmerkmal mit sich bringt; tritt aber ein früher vorhandenes Artmerkmal wieder auf, so bezeichnen wir die Veränderung als degressiv (Plate). Infolgedessen gibt es nur degressive und retrogressive Mutationen. Das Wesentliche der Mutationserscheinung besteht also, soweit aus der Beobachtung allein hervorgeht, darin, daß Eigenschaften zeitweise sichtbar sind, plötzlich verschwinden (retrogressive Mutation) und ebenso plötzlich wieder sichtbar werden können (degressive Mutation). Wirklich verloren oder neu erworben werden dabei keine Artmerkmale.

Wesen der Mutation. Auf Grund der allgemeinen Vererbungsgesetze können wir die Mutation als einen ganz bestimmt zu präzisierenden Vorgang auffassen. Wir führten aus, daß bei der Vererbung nur die Anlagen, nicht aber die fertigen Eigenschaften auf die Nachkommen übertragen werden, und daß die Anlagen sich nicht immer in die entsprechenden sichtbaren Artmerkmale umwandeln. Wenn demnach bei der Mutation eine sichtbare Eigenschaft in den Nachkommen plötzlich verschwindet, so braucht damit nicht zugleich die betreffende Anlage verloren gegangen zu sein, und der Umstand, daß diese Eigenschaft in späteren Generationen plötzlich wieder sichtbar wird, beweist sogar, daß die Anlage zu dieser Eigenschaft bei der Veränderung nicht verloren

ging. Hieraus ergibt sich für das Wesen der Mutation, eine Auffassung, welche sich im wesentlichen an Beijerinck anschließt: die Mutation besteht darin, daß aktive Erbeinheiten latent, bzw. latente Erbeinheiten aktiv werden. Ersteres entspricht der retrogressiven, letzteres der degressiven Mutation. Ferner folgt hieraus, daß die Rückschläge in dem Ausgangstypus weiter nichts sind als eine Mutation, welche in umgekehrter Richtung wie die ursprüngliche verläuft [Beijerinck, Baerthlein (15)]. Neue Erbeinheiten entstehen also bei der Mutation nicht.

Durch diese Vorstellung vom Wesen der Mutation werden die Erscheinungen der Mutation wenigstens zum Teil verständlich.

In unserm Fall zeigte sich die primäre Mutation darin, daß der Friedländersche Pneumoniebacillus das Schleimbildungsvermögen verlor, und daß aus dem plumpen Stäbchen ein schlankes wurde (verbunden mit eigentümlichen, erst durch die Färbung sichtbaren Erscheinungen). Sie bestand also in dem Latentwerden zweier Anlagen, nämlich des Viscoplasmas und einer anderen Gene, welche die Aenderung des Endoplasmas im Sinne einer Reduktion verursachte. Die Aenderung der beiden Erbeinheiten fand anscheinend in unmittelbarem Zusammenhang statt. Dabei wurde zuerst das Viscoplasma und dann die an das Endoplasma gebundene Erbeinheit inaktiviert, wie die Uebergangsformen zeigten. Der Rückschlag in den ursprünglichen Typus, die degressive Mutation bestand in der Aktivierung der latent gewordenen Anlagen, welche ebenfalls bei beiden Anlagen in unmittelbarem Zusammenhang erfolgte.

Das Sprunghafte der Mutation erklärt sich dadurch, daß eine Anlage sich hinsichtlich ihrer sichtbaren Erscheinung im vollen Umfange ändert, ohne daß sichtbare Aenderungen vorhergegangen sind. Denn die Prämutationsphase verläuft, wie wir gesehen haben, vollkommen latent. Daß die Mutation auch bei Bakterien wirklich sprunghaft ist, glaube ich gerade durch die Beobachtung der Uebergangsformen, welche in Wirklichkeit nur scheinbare Uebergangsformen sind, nachgewiesen zu haben; denn diese Uebergangsformen verteilen sich nicht auf mehrere Generationen, sondern sind Stadien der Entwickelung des einzelnen Individuums. Sie kommen nur dadurch zur Beobachtung, daß die Mutation in den ersten Kulturgenerationen zu spät einsetzt und die Entwickelung der mutierenden Keime kurz nach Beginn der Mutation still steht; wird das in die Mutation eingetretene Individuum durch eine Uebertragung zu weiterer Entwickelung angeregt, so gelangt die Mutation im gleichen Individuum zu ihrem Ende; sämtliche Uebergangsformen erreichen das Endstadium der Mutation. Würden sich jedoch die Uebergangsformen fortpflanzen, ohne daß die Mutation in ihnen vollendet ist, so müßte man auch unter den Nachkommen die gleichen Uebergangsformen finden. Dies ist aber nicht der Fall. Der Beweis, daß sich die Mutation in der Existenz einer einzigen Generation vollzieht, also wirklich sprunghaft ist, erscheint mir demnach als möglich und durch meine Beobachtung erbracht.

Der „spontane“ Eintritt, die „Richtungslosigkeit“ der Mutation schien zunächst der Forschung die größten Schwierigkeiten zu bieten. Man glaubte anfangs, daß eine Veränderung nur dann als Mutation gelten dürfe, wenn sie spontan, d. h. nicht aus äußeren, sondern lediglich aus inneren Gründen eintrete. Doch nimmt auch de Vries an, daß der allein aus inneren Gründen erfolgenden Mutation eine durch äußere Ursachen bewirkte Prämutationsphase vorausgehe. In der Tat

sind solche äußere Faktoren in den letzten Jahren immer mehr bekannt geworden: rascher Wechsel des Milieus, üppiges Wachstum mit rasch aufeinanderfolgenden Generationen, aber auch langes Stehenlassen der Kulturen haben sich als mutationsbefördernd erwiesen (Kruse, Beijerinck, Baerthlein). Damit stand fest, daß wenigstens der Eintritt der Mutation von äußeren Faktoren abhängig sein kann. Infolgedessen wurde die bisherige Anschauung abgeändert und man nahm an, daß die Mutation, falls sie wirklich gleichzeitig mit äußeren Einflüssen eintrete, doch durch diese Einflüsse nicht in ihrer Richtung bestimmt würde, also richtungslos sei, d. h. nach allen möglichen Richtungen verlaufen könne. Doch spricht schon Beijerinck in seiner Monographie (1912) den Gedanken aus, daß die Regelmäßigkeit, mit der unter bestimmten Bedingungen immer die gleichen Mutanten entstehen, es wahrscheinlich macht, daß die Mutation bestimmt gerichtet sei. Schottelius (17) und Eisenberg (16) gehen noch weiter und vermuten, daß die Mutation für die Erhaltung der Art nützlich sein könne. Dies wird sich in folgendem bestätigen.

Die schwierige Frage über die Richtung und biologische Bedeutung der Mutation hängt am engsten mit dem Wesen der Mutation und mit den Faktoren zusammen, welche für die Umwandlung einer Anlage in die entsprechende sichtbare Eigenschaft maßgebend sind.

Wir müssen darauf zurückkommen, daß die Anlagen einer Art sich aus inneren Gründen normalerweise in die fertigen Eigenschaften umwandeln, dabei aber durch äußere Einflüsse modifizierbar sind, befördert oder gehemmt werden können. Man sieht also, daß äußere Einflüsse für die Herbeiführung einer Zustandsänderung von Erbeinheiten, d. h. beim Eintritt der Mutation beteiligt sein müssen. Eine retrogressive Mutation wird demnach eintreten, wenn die äußeren Faktoren derart hemmend auf die Anlage einwirken, daß diese nicht in einer sichtbar werdenden Eigenschaft zutage tritt und inaktiviert wird; eine degressive Mutation ist zu erwarten, wenn die innere Tendenz der Anlage die bisher überwiegenden hemmenden äußeren Faktoren überwindet und zum Durchbruch kommt.

Die äußeren Einflüsse müssen also das Idioplasma selbst ergreifen und die Erbeinheiten in ihrer Reaktionsfähigkeit beeinflussen. Erbliche, experimentell bewirkte Veränderungen unterscheiden sich dadurch von den nicht erblichen. Sie sind Mutationen wie z. B. die von Fischer an Schmetterlingen (Arctia caja) oder von Tower an Käfern (Leptinotarsa decemlineata) erzielten Veränderungen. Diese Veränderungen beweisen keine Erblichkeit von Modifikationen („Somationen" Plate), da sie keine Modifikationen sind, sondern sie beweisen nur, daß es gelingt, durch äußere Einflüsse das Idioplasma bzw. einzelne Erbeinheiten in ihrem Zustande abzuändern.

Ursachen für die Mutation. Als Ursache für die Mutation scheinen mir in unserem Falle Stoffwechselprodukte in Betracht zu kommen, und zwar zunächst für die primäre Mutation, also für die Inaktivierung einer Anlage, die Anhäufung von Stoffwechselprodukten. Wie oben erwähnt, läßt sich die Mutation durch das Wachstum der Bakterien im zusammenhängenden Rasen sehr rasch herbeiführen; beim Wachstum in isolierten Kolonieen bleibt sie aus und ist nur zu erhalten, wenn man mehrere Monate alte Kolonieen neu überträgt. Ferner läßt sich die Mutation zurückdrängen, wenn man Material, welches schon in die Prämutationsphase eingetreten ist, in Bouillon überträgt, wobei die

Keime isoliert wachsen, und die Uebertragungen in kurzen Zwischenräumen fortsetzt. Besonders beweisend für den Einfluß der Stoffwechselprodukte erscheint mir die Beobachtung, daß die Mutation immer nur in den später entstehenden peripheren Teilen des Bakterienrasens eintritt. Ueberträgt man nämlich das Material einer Kultur, welches schon in die Prämutationsphase eingetreten ist, auf Schrägagar, so wachsen die übertragenen Keime zunächst ganz unverändert; erst wenn sich der wachsende Bakterienrasen ausbreitet, tritt in den peripheren Partieen die Mutation ein. Es ist dies meiner Ansicht nach nicht anders zu erklären, als durch die Annahme, daß die zentralen unmittelbar übertragenen Keime zunächst ohne die Wirkung angehäufter Stoffwechselprodukte wachsen und deshalb typisch bleiben. Bis sie jedoch die Stoffwechselprodukte in genügender Konzentration gebildet haben, steht ihr Wachstum schon still und sie sind nicht mehr sichtbar zu verändern. Die an der Peripherie entstehenden Generationen werden aber vom Beginn ihrer Entstehung ab durch die von den älteren Generationen abgesonderten, jetzt schon angehäuften Stoffwechselprodukte beeinflußt und in ihnen kommt die Mutation zum Ausbruch.

Erst nachdem ich die Mutation auf die Anhäufung von Stoffwechselprodukten zurückführte und die Versuche unter diesem Gesichtspunkte anstellte, gelang es mir regelmäßig, die Mutation nach Belieben herbeizuführen, während ich vordem die Mutation bald einmal erhielt und bald wieder durch alle möglichen angewandten Bedingungen nicht erzielen konnte.

Sehr interessant ist nun das weitere Verhalten der Mutante. Ueberträgt man regelmäßig in den üblichen Zwischenräumen (einen Tag bis vier Wochen), so bleibt die Mutante unverändert. Auch bei Uebertragung in noch kürzeren Zwischenräumen, d. h. sobald nur das Wachstum zu bemerken war, bleibt die Mutante auf künstlichen Nährböden konstant, und zwar sogar wenn man sie nicht im zusammenhängenden Rasen, sondern isoliert, wie z. B. in der Bouillon wachsen läßt. Die einmal inaktivierte Anlage bleibt also bei fortgesetzter Proliferation dauernd inaktiv. Wir müssen demnach annehmen, daß auch die Produkte des reduzierten Stoffwechsels der Mutante — das Viscoplasma hatte vor der Inaktivierung hervorragenden Anteil am Stoffwechsel genommen und die größte Masse des Bakterienrasens gebildet — dazu genügen, um die Anlage inaktiv zu halten. —

Läßt man aber die Kulturen der Mutante längere Zeit (mindestens 6—8 Wochen) unübertragen stehen und überimpft dann neu, so zeigt sich die höchst auffallende Erscheinung des Rückschlags. Wir können dies nur so erklären, daß in alten Kulturen, in denen das Wachstum stillsteht und keine Stoffwechselprodukte mehr gebildet werden, die hemmende Wirkung der Stoffwechselprodukte immer mehr abnimmt — vermutlich deshalb, weil sie selbst nicht beständig sind — und schließlich so gering wird, daß die inaktivierte Anlage bei erneuter Uebertragung wieder zum Durchbruch kommt.

Zugleich können bei dem Rückschlag Auslesevorgänge in Betracht kommen; denn bei dem Altern der Kulturen bleiben nur die „besten Individuen“ erhalten, und nicht alle Keime schlagen bei erneuter Uebertragung in den normalen Typus zurück. Auf die Bedeutung der Selektion für den Rückschlag hat mich Herr Professor A. Spuler aufmerksam gemacht.

Frische Kulturen der Mutante zeigen die Fähigkeit zum Rückschlag nur im Tierkörper. Auch unter diesen Bedingungen findet das Wachstum der Keime isoliert statt (besonders im Blut). Die Stoffwechselprodukte der Bakterien werden dabei durch die Säftezirkulation des Tieres von den Bakterien weggeschafft und können sich nicht anhäufen. Wahrscheinlich sind aber bei diesem Rückschlag auch noch andere Faktoren beteiligt, welche an den Tierkörper gebunden sind. So werden die das Viscoplasma hemmenden Einflüsse beseitigt und die Bildung der Schleimhüllen tritt wieder ein. Es erfolgt also der Rückschlag nur scheinbar ganz spontan, d. h. allein aus inneren Gründen; denn auch bei ihm spielt eine Aenderung in den äußeren Faktoren eine wenigstens auslösende Rolle.

Die Ursache für die Mutation und für den Rückschlag wäre hiermit auf eine Anhäufung bzw. auf den Wegfall der Stoffwechselprodukte zurückgeführt. M. E. erklärt sich hierdurch die auch von anderen Autoren übereinstimmend beobachtete Erscheinung, daß die Mutation meist nur durch Abimpfung aus älteren Kulturen zu erhalten ist, daß man, um die Mutation in kürzerer Zeit durch mehrere Uebertragungen herbeizuführen, die Zeiträume zwischen den einzelnen Uebertragungen groß genug wählen muß (Beijerinck, Baerthlein) und daß die Rückschläge erst dann eintreten, wenn die Kulturen der Mutante ziemlich lange Zeit unübertragen stehen geblieben waren.

Richtung der Mutation. Es fragt sich jetzt, ob der Verlauf der Mutation in erkennbarer Weise von der Ursache der Mutation beeinflußt ist, ob also die Mutation eine bestimmte Richtung, eine biologische Bedeutung hat. Dies geht aus folgendem hervor. Die von dem normalen Bacillus gebildeten Stoffwechselprodukte machen unter den Bedingungen der künstlichen Kultivierung die unveränderte Existenz der Art unmöglich. Ueberträgt man nämlich von den typisch gebliebenen, nicht mutierten Stellen des Bakterienrasens in längeren Zwischenräumen (z. B. alle 6 Tage) fortgesetzt weiter, so erhält man eine allmähliche Abnahme des Schleimbildungsvermögens. Die Stoffwechselprodukte wirken an den zentralen, normal bleibenden Stellen der Kultur zu spät ein, um das Viscoplasma zu inaktivieren und die Mutation herbeizuführen. Deshalb stehen die zentralen Partieen unter dem ständigen Einfluß sämtlicher Stoffwechselprodukte, auch wenn diese erst in einem späteren Entwickelungsstadium der Kultur höhere Konzentration erreichen. Man beobachtet dann, daß die Schleimbildung immer mehr abnimmt, schließlich ganz verschwindet und auch bei Herstellung der günstigsten Bedingungen nicht wieder eintritt. Man muß also annehmen, daß bei fortgesetztem Wachstum des normalen Typus die Anlage zur Schleimbildung immer mehr geschädigt wird und schließlich vollkommen verloren geht. Der normale Typus verfällt dieser „Degeneration“ im Verlaufe von 2—3 Monaten, selbst die für die Aktivierung der Anlage wirksamsten Faktoren, nämlich Tierpassagen, zeigen sich dann trotz dauernder Einwirkung (20 Mauspassagen) vollkommen erfolglos. Durch die Mutation dagegen wird das Viscoplasma inaktiviert und dadurch der Stoffwechsel und die Bildung seiner schädlichen Produkte wesentlich reduziert. So gewinnt die Mutante die Fähigkeit, unter den Bedingungen der künstlichen Kultivierung unverändert weiter zu existieren und erhält sich die Fähigkeit zum Rückschlag in den normalen Typus. Daraus folgt, daß in unserem Falle die Mutation die biologische Bedeutung der Arterhaltung hat und in ihrer Richtung sehr wohl

bestimmt ist. Die Zweckmäßigkeit der Mutation zeigt sich kurz gesagt darin, daß sie unter dem Einfluß einer Schädlichkeit entsteht und zur Beseitigung dieser Schädlichkeit führt.

Der Rückschlag der Mutante in den normalen, mit Kapsel versehenen Bacillus durch Tierpassagen macht ebenfalls den Eindruck des Zweckmäßigen; denn im Tierkörper übt die Kapsel, wie aus Virulenzbestimmungen hervorging, eine deutliche Schutzwirkung für den Bacillus aus [1]). Ob aber die Aktivierung des Viscoplasmas beim Aufenthalt des Bacillus im Tierkörper nicht nur auf den Wegfall hemmender Faktoren zurückgeführt werden muß, wie oben angeführt, sondern auch durch die Wirkung eines adäquaten Reizes (die Kapseln werden nach Ansicht vieler Autoren als Schutzorgan gegen bakterizide Stoffe gebildet) verursacht sein kann, möchte ich vorerst nicht entscheiden. Hingegen macht der Rückschlag der Mutante auf künstlichen Nährböden zunächst den Eindruck des Unzweckmäßigen, da ja der normale Typus hier nicht beständig ist. Die Ursache und die Richtung der Mutation ist aber, wie schon angeführt, auch bei diesem Rückschlag durch die Tendenz der betreffenden Anlage verständlich. Trotzdem kann auch dieser Rückschlag eine biologische Bedeutung, d. h. eine Zweckmäßigkeit haben; denn wenn auch bei weiterem Wachstum das Viscoplasma rasch wieder latent wird, kann doch die vorübergehende Aktivierung eine den Artcharakter erhaltende Wirkung ausgeübt haben.

In anderen Fällen ist die Richtung der Mutation leichter zu erkennen. Es kann unter Umständen sogar der Fall eintreten, daß eine latente Anlage durch einen adäquaten, experimentell zu beherrschenden Reiz oder wenigstens durch Vorgänge, welche an das den adäquaten Reiz enthaltende Milieu gebunden sind, aktiviert und so eine ersichtlich zweckmäßige Veränderung hervorgerufen wird. Die von Neisser beobachtete Mutation bei Bacterium coli mutabile besteht darin, daß diese Bakterienart bei Kultivierung auf einem Milchzucker enthaltenden Nährboden (Endoagar) mutationsartig eine laktosevergärende Rasse abspaltet. Es ist dies eine echte Mutation, wie aus den Versuchen über die Vererbbarkeit und die Fähigkeit zu Rückschlägen hervorgeht (Baerthlein). Sie erweist sich trotz ihrer deutlichen Zweckmäßigkeit nicht als eine bloße Anpassung (als Modifikation), wie einige Autoren in letzter Zeit behauptet haben.

Viele andere Mutationen, die hauptsächlich in Aenderungen des morphologischen und kulturellen Verhaltens beruhen, lassen eine deutliche Richtung und Zweckmäßigkeit nicht erkennen. Hierher gehören manche der in letzter Zeit von Beijerinck, Baerthlein, Eisenberg u. a. beobachteten Mutationen. Wir dürfen aber diese Mutationen allein aus dem Grunde, weil wir ihre biologische Bedeutung nicht erkennen, nicht als richtungslos bezeichnen. Dies betont Eisenberg mit vollem Recht. Noch unbegründeter erscheint es mir, wenn man eine Veränderung, weil sie in einer dem Reiz entsprechenden Richtung erfolgte, d. h. zweckmäßig erscheint, den Charakter der Mutation absprechen will, oder weil durch die Mutation die gleiche Veränderung entstehen kann wie durch die Modifikation. Denn nicht, was bei der Veränderung entsteht, sondern

1) Im Tierversuch zeigt sich der normale Typus als hochvirulent, die Mutante als avirulent. Da der normale Typus fast nur im Tierkörper, die Mutante nur auf künstlichen Nährböden beständig ist, so folgt, daß die Mutation den Wechsel von parasitärem und saprophytischem Zustand ermöglicht, ohne daß der Artcharakter eine Aenderung erleidet [Toenniessen (18)].

wie es entsteht und wie sich die Variante bei Vererbungsversuchen verhält, ist für die Beurteilung des Charakters der Variation maßgebend (Baur, Plate u. a.).

Erblichkeit der Mutationen. Die Erblichkeit der Mutation zeigt sich darin, daß die Mutante konstant bleibt auch ohne Fortdauer der Bedingungen, welche zu ihrer Entstehung nötig waren, nämlich unter den gleichen Bedingungen, welche die Fortdauer des normalen Typus ermöglichen und den Eintritt der Mutation sogar verhindern.

Ebenso verhält es sich mit dem Rückschlag in den normalen Typus. Ist der normale Typus einmal wiedergewonnen, so bleibt er erhalten, ohne daß die zur Aktivierung der latenten Erbeinheiten nötigen Faktoren andauern, nämlich durch rasche Uebertragungen, welche allein für sich den Rückschlag der Mutante nicht herbeiführen. Erst wenn von neuem die die Anlage hemmenden Faktoren in höherem Grade einwirken, wird sie wieder inaktiv. Es zeigt sich also, daß normaler Typus und Mutante unter gleichen Bedingungen konstant bleiben, sobald einmal der jeweilige Zustand der Erbeinheiten herbeigeführt ist; hieraus folgt, daß eine Anlage in dem Zustand, in welchen sie durch den Einfluß äußerer Faktoren gebracht wurde, beharren bleibt, ohne daß die den entsprechenden Zustand verursachenden Faktoren in gleicher Stärke fortdauern.

Die Rückschläge erklären sich hinsichtlich ihrer Richtung und Ursache auf Grund der geschilderten Wechselwirkung zwischen Anlage und hemmenden Faktoren. Sie zeigen, daß die Artbeständigkeit durch die Mutation in keiner Weise angegriffen wird (wie oben erwähnt, kann die Mutation sogar arterhaltenden Charakter haben). Auch wenn durch die Mutation nicht nur eine, sondern mehrere Erbeinheiten zugleich oder nacheinander in ihrem Zustand verändert werden, lassen sich nach den bis jetzt vorliegenden Ergebnissen die Rückschläge in den normalen, ursprünglichen Typus regelmäßig herbeiführen.

Zusammenfassung.

Die Mutation beruht auf einer Zustandsänderung von Erbeinheiten; es werden entweder aktive Genen inaktiv, oder latente Genen aktiv. Neue Genen entstehen bei der Mutation nicht; die Artgrenzen werden nicht überschritten.

Die Mutation vollzieht sich sprunghaft, d. h. im Laufe der Existenz eines einzelnen Individuums. Eine latente Prämutationsphase geht ihr voraus.

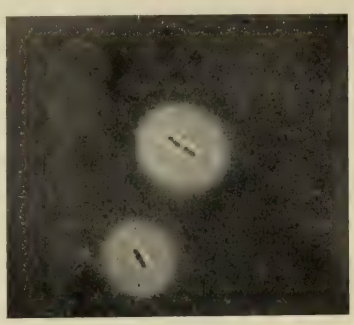
Die retrogressive Mutation beruht darauf, daß aktive Erbeinheiten durch hemmende Faktoren inaktiv werden. Als Ursache hierfür kommen Stoffwechselprodukte der Bakterien in Betracht.

Die degressive Mutation beruht darauf, daß latente Genen aktiviert werden. Dies kann durch den Wegfall hemmender äußerer Faktoren und vielleicht auch durch die Wirkung adäquater Reize verursacht sein.

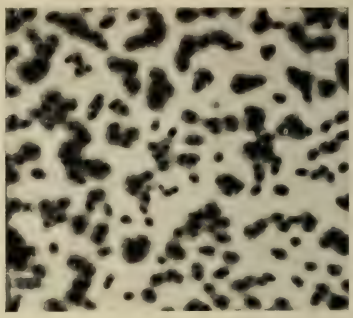
Die Erblichkeit der Mutation ist dadurch zu erklären, daß die einmal aktivierten oder latenten Erbeinheiten in ihrem Zustande verharren, ohne daß die den betreffenden Zustand verursachenden Faktoren in gleicher Stärke andauern.

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS.

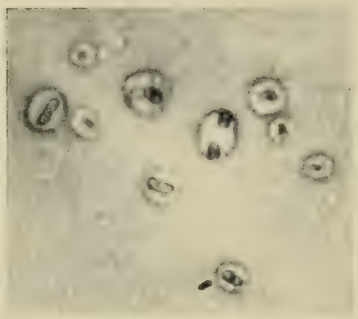
I



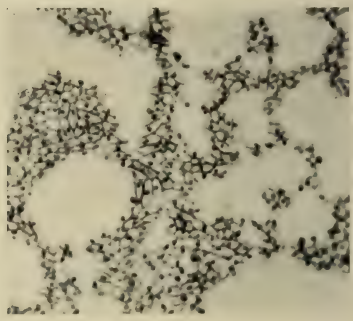
II



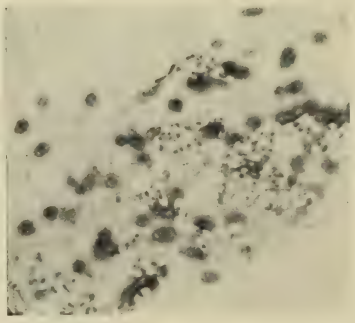
III



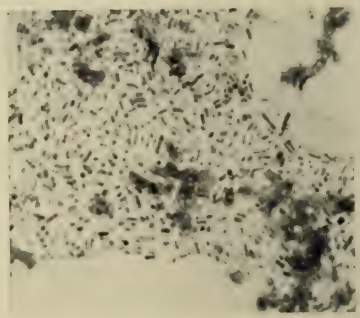
IV



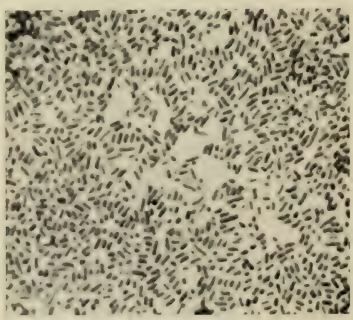
V



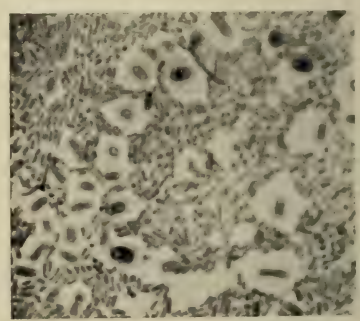
VI



VII



VIII



Die Rückschläge in den Ausgangstypus sind ein der primären Mutation vollkommen analoger Vorgang; sie werden herbeigeführt durch wesensgleiche, aber umgekehrt gerichtete Faktoren.

Die Mutation ist also nicht richtungslos. Sie macht nur dann den Eindruck eines rein aus inneren Gründen, d. h. spontan erfolgenden und richtungslosen Vorgangs, wenn sie auf einer uns unbekannten inneren Tendenz beruht, welche den Einfluß bekannter äußerer Faktoren überwiegt.

In unserem Fall hat die Mutation arterhaltenden Charakter.

Literatur.

1) Darwin, Charles, Ueber die Entstehung der Arten. 1859.
2) Nägeli, Mechanisch-physiologische Theorie der Abstammungslehre. 1884.
3) de Vries, Die Mutationstheorie. 1901 u. 1903.
4) Hertwig, Oskar, Allgemeine Biologie. 1912.
5) Hertwig, Richard, Lehrbuch der Zoologie. 1912.
6) Weismann, Vorlesungen über Deszendenztheorie. 1913.
7) Plate, Leitfaden der Deszendenztheorie. 1913.
8) Johannsen, Elemente der exakten Erblichkeitslehre. 1909.
9) Baur, Einführung in die experimentelle Vererbungslehre. 1911.
10) Beijerinck, Mutation bei Mikroben. (Folia microbiol. 1912.)
11) Kruse, Allgemeine Mikrobiologie. 1910.
12) Wilde, Ueber den Bacillus pneumoniae Friedländers. [Diss.] Bonn 1896.
13) Neisser u. Massini, Arch. f. Hyg. 1907.
14) Müller, Reiner, München. med. Wochenschr. 1909.
15) Baerthlein, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 1912 u. die dort zitierten Arbeiten des gleichen Verf.
16) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 63 u. 66.
17) Schottelius, 5. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie. Dresden 1911.
18) Toenniessen, Deutscher Kongreß für innere Medizin. 1913.

Erklärung der Mikrophotogramme.

Ich verdanke die Mikrophotogramme dem liebenswürdigen Entgegenkommen Herrn Professor Heims, welcher die Aufnahmen zum Teil selber vornahm. Ich möchte auch an dieser Stelle die Gelegenheit ergreifen, Herrn Professor Heim für seine tatkräftige Unterstützung bestens zu danken. Sämtlichen Bildern liegen Kulturen des Pneumoniestammes zugrunde.

Fig. I. Lebender normaler Bacillus aus dem Tierkörper, Agar- oder Bouillonkultur in Tusche aufgeschwemmt. Zeigt die Zusammensetzung des normalen Typus aus Endo- und Ektoplasma, umgeben von der Schleimhülle.

Fig. II. Eine Agarkultur des normalen Bacillus auf dem Objektträger angetrocknet, durch Hitze fixiert und mit Methylenblau gefärbt. Die Schleimhüllen sind geschrumpft, unscharf begrenzt und lassen die Konturen der eingeschlossenen, dunkler gefärbten Bacillen verschwommen erscheinen.

Fig. III. Die gleiche Kultur in eiweißhaltiger Flüssigkeit (verdünntes Serum) aufgeschwemmt und mit Sublimat fixiert. Die Kapsel bleibt in ihrer Form erhalten und schrumpft nur wenig; dadurch tritt das Endoplasma deutlicher hervor, es erscheint in seinen inneren Partieen schwach gefärbt und enthält ein ovales oder längliches, stärker gefärbtes Gebilde.

Fig. IV. Die Fluktuante. Die Schleimhüllen sind verschwunden, das Endoplasma unverändert geblieben. Die Bacillen liegen demnach als relativ plumpe, fast farblose, säckchenförmige Gebilde eng aneinander. In ihrem Innern zeigen sie besonders deutlich die gefärbten kugeligen oder ovalen Körper.

Fig. V. Beginn der Mutation. Neben den mit Schleimhüllen versehenen Bacillen liegen fast farblose, welche keine Schleimhüllen mehr zeigen („Uebergangsformen"). Das Endoplasma ist noch nicht verändert.

Fig. VI. Die Mutation zu ihrem Endstadium vorgeschritten. Neben den normal gebliebenen Bacillen, die sich durch ihre dunkelgefärbten Schleimhüllen deutlich abheben, liegen schlanke Stäbchen, die Mutanten.

Fig. VII. Reinkultur der Mutante. Schlanke, homogen gefärbte Stäbchen ohne Kapsel.

Fig. VIII. Beispiel für den Rückschlag. Eine Reinkultur der Mutante blieb vom 30. Juni 1912 unübertragen stehen bis zum 18. Nov. 1912. Bei erneuter Uebertragung schlug ein Teil der dünnen kapsellosen Stäbchen in den Ausgangstypus der dicken, mit Schleimhüllen versehenen Stäbchen zurück. Die Schleimhüllen sind an einigen Bacillen besonders deutlich als eine geschrumpfte, unregelmäßig begrenzte und homogen hellgefärbte Substanz zu sehen, welche den Bacillus umgibt.

Nachdruck verboten.

Ueber die feinere Morphologie der Kurloff-Körper und ihre Aehnlichkeit mit Chlamydozoen-Einschlüssen. II.

Mit einem Zusatz über Rosssche Einschlüsse bei Syphilis.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg.]

Von Dr. **V. Schilling**-Torgau, Oberarzt, kommandiert zum Institut.

Mit 2 Tafeln und 1 Figur.

A. Der Stand der Kurloff-Körper-Frage.

Neuere Literatur.

1) Schilling-Torgau, V., Ueber die feinere Morphologie der Kurloff-Körper und ihre Aehnlichkeit mit Chlamydozoen-Einschlüssen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. p. 318—325. M. 2 Taf.)
2) — Ueber die mögliche Umwandlung von Strukturen zu Pseudoparasiten, Chlamydozoenkörpern etc. in Erythrocyten und anderen Zellen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912. p. 393—400. M. 2 farbig. Taf.)
3) Huffman, V., Kurloff-body, a spurious parasite. (Parasitology. Vol. 4. 1911. p. 457.)
4) Flu u. Pappenheim, Zur Kenntnis und zur Frage der protozoischen Natur der sogen. Kurloff-Körper des Meerschweinchenblutes. (Fol. haematol. Arch. Bd. 13. 1912. 1 Taf.)
5a) Schilling-Torgau, V., Berichtigung zu vorstehender Arbeit. (Fol. haematol. Arch. Bd. 13. 1912.)
5b) Pappenheim, Antwort dazu. (Ebenda.)
6) Ross, E. H., The Development of a Leukocytozoon of Guinea-Pigs. (Ann. of trop. Med. Vol. 6. 1912. p. 69. M. 1 Farbtaf.)
7) — An intracellular parasite developing into Spirochaetes. (Brit. med. Journ. 1912. p. 1651—1655. M. 1 Farbtaf.)
8) Patella, Sulla natura protozoaria dei corpi di Kurloff. (Rif. med. Vol. 28. No. 25.)
9) Schilling-Torgau, V., Zur Frage der neuen Rossschen Entwicklung des Syphiliserregers. (München. med. Wochenschr. 1913. H. 4.)
10) Carini, Sobre os corpusculos de Kurloff. (Revista med. de S. Paulo. 1911).
11) Flu, Over de z.g.n. Kurloff-lichamen in de mononukleaire van Cavia cobaya. (Geneesk. Tijdschr. v. Nederlandsch-Ind. D. 52. 1912. p. 697—702. M. 1 Farbtaf.)
12) Kolmer, W., Beziehungen von Nebenniere und Geschlechtsfunktion. (Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 144. 3912.)

Seit meiner ersten Mitteilung über die feinere Morphologie der Kurloff-Körper (1) sind einige Arbeiten erschienen, die auf diese Untersuchungen Bezug nahmen, ohne ihnen ganz gerecht zu werden. Es dürfte das an der außerordentlichen Kompliziertheit der Methoden und Befunde liegen, über die ich berichtete. Ich selbst prüfte sämtliche bisher angewendeten Methoden und einige neue genau und wiederholt, wie aus meiner ersten Mitteilung hervorgeht; einige weitere Untersucher hielten sich für berechtigt (besonders Flu-Pappenheim), meine neuen Ansichten ohne meine Technik anzuwenden und ohne auf meine

Mitteilungen überhaupt genau einzugehen, sie für nicht zu recht bestehend zu erklären (Flu-Pappenheim) oder in einem Atem mit der von mir selbst abgewiesenen einfachen Protozoentheorie zu zitieren (z. B. Flu-Pappenheim, Huffman, Patella, Flu).

Weiter scheint mir die geringe Vertrautheit mit der allerdings ebenfalls recht schwierigen Chlamydozoentheorie von Prowazeks, die ich für die Kurloff-Körper heranzog und deren Details ich als bekannt voraussetzte, Irrtümer hervorgerufen zu haben. Sie wären vielleicht vermieden worden, wenn ich Punkt für Punkt meine Ansichten über die Aehnlichkeit der Kurloff-Körper mit diesen Chlamydozoen-Einschlüssen auseinandergesetzt hätte. Um die als vorläufige Mitteilung gedachte Arbeit nicht zu lang zu gestalten, hatte ich auf die Arbeiten von Prowazeks im wesentlichen hingewiesen; dennoch hatte ich die Art meiner Analogisierung in der Schlußzusammenfassung ausdrücklich ausgesprochen (siehe Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. p. 322).

Nach diesen Erfahrungen bin ich genötigt, noch einmal die Resultate meiner ersten Mitteilung zu erläutern und sie mit den erschienenen Arbeiten auseinanderzusetzen, ehe ich auf meine neuen Untersuchungen eingehen kann; ich möchte aber betonen, daß ohne genauestes Studium der ersten Mitteilung (1) eine ausreichende Vorstellung von diesem schwierigen Thema nicht gewonnen werden kann; die notwendigen allgemeinen Kenntnisse über die Kurloff-Körper sind dort kurz zusammengestellt.

Von früheren Meinungen wurde u. a. erwähnt:

Ehrlich hielt die in den großen Mononukleären der Meerschweinchen gefundenen Einschlußkörper (Kurloff) für Sekretvakuolen, Pappenheim-Ferrata etwas erweitert für vergrößerte Plasmosomen, Patella für echte Parasiten, die er als Flagellaten frei beobachtet haben wollte, ich selbst für besondere spezielle im Meerschweinchen vorkommende und phagocytisch aufgenommene Produkte der Blutbildung.

Entgangen war mir, worauf Flu-Pappenheim aufmerksam machten, das Ledingham neben Leukocytozoen schon Guarnieri-Körper vergleichsweise heranzog.

Ledingham gründete diese Aehnlichkeit direkt auf „the morphological structure of these bodies in stained films and their inclusion in vakuoles of the cytoplasm". Seine Abbildungen zeigen Kurloff-Körper nach Ausstrichen, wie man sie nur durch unzureichende Alkoholfixierung erhält; in der Tat sagt Ledingham auch, daß nur einige seiner sehr vielen Ausstriche derartige Bilder geliefert hätten. Die von Flu auch nach der Anerkennung dieser Tatsache mir weiter vorgehaltene Priorität Ledinghams kann ich nicht erkennen; sie besteht in der Tat nur darin, wie ich sagte (Lit. 5, p. 218), daß Ledingham „als zweite Deutung eine gewisse grobe morphologische Aehnlichkeit mit dem Cytorryctes Guarnieri" bemerkt, ohne sich für Leukocytozoen oder diesen zu entscheiden und daß, wie ich ebenfalls angab, Ledinghams nach schlecht fixierten Präparaten gezeichneten Abbildungen „eine bemerkenswerte Aehnlichkeit mit einzelnen meiner Vitalfärbungen" trotzdem zeigten. Detaillierte Vergleiche zwischen der auch heute noch nicht so genau bekannten Struktur der Guarnieri-Körper gibt Ledingham nicht an. Guarnieri hielt den ganzen Einschluß für einen Parasiten und Ledingham kannte die Chlamydozoentheorie noch nicht, die den Einschluß als Zellreaktion auf Einwanderung sehr zahlreicher winzigster Körnchen erklärte. Somit steht seine Auffassung der Patellas nahe, der die gleichen Präparate (Kunstprodukte nach Flu-Pappenheim) als Leukocytozoon deutete, wie Flu-Pappenheim auch „Patella-Ledingham" zusammenfassen. Ich habe deshalb Flu leider noch einmal entgegnen müssen.

1911 (Lit. 1) änderte ich auf Grund weiterer Studien meine oben erwähnte Ansicht von der Entstehung der Kurloff-Körper durch Phagocytose: Es gelang mir, in den Kurloff-Körpern neue, sehr präzise Strukturen darzustellen.

Ich fand eine scheinbar progressive Entwickelung, ausgehend von sehr kompakten kernanliegenden Formen; diese paranukleären kompakten Massen lagen in einer Vakuole im Protoplasma der großen Mononukleären. Bei den größeren Formen fand ich ab und an zentrale Innenkörper. Mit einer neuen Azur-II-Vitalfärbung fand ich weiter, daß in den kleineren Formen kompakte größere Einzelkörper vorhanden waren, die sich erst einfach durchzuschnüren, dann zu geknöpften Stäbchen und Hanteln zu werden schienen; diese teilen sich anscheinend immer weiter, bis zu kleinen Hantelformen, die nun in großer Zahl das vergrößerte Kurloff-Körperchen erfüllen. Zuletzt fand ich das ganze Kurloff-Körperchen voll von ziemlich kleinen, an Diplokokken erinnernden Gebilden, die unverändert ihre starke metachromatische Azurfärbung bewahrten. Außerdem wurden Fäden, Spirillen- und Spirochätenformen gesehen. Natürlich war diese ganze „Entwickelungs"-Reihe nur eine aus Einzelbildern zusammengestellte. Drittens fand ich bei gequollenen Kurloff-Körperchen äußerst feine, nur sehr wenig Vitalfarbstoff annehmende Körnchen, die zwischen den gröberen intensiv färbbaren Gebilden molekular herumtanzten (Fig. s. Lit. 1, Tafeln).

Ich schloß also:

Die ihrem ganzen Auftreten nach als etwas Abnormes erscheinenden Kurloff-Körper besitzen statt einer homogenen sekretartigen Struktur eine konstante sehr komplizierte Zusammensetzung aus einer gallertigen Grundsubstanz, einem Restkörper, gröberen in fortschreitender Entwickelung befindlichen Stäbchen, Fäden, Spirochätoiden etc. und äußerst feinen, noch zwischen den erwähnten Gebilden liegenden Körnchen.

Die Kurloff-Körper erscheinen also nur in bestimmten Präparationen homogen (eine vollständige Zusammenstellung aller dieser Methoden mit Befund ist unter Lit. 1, Punkt 10 l. c. gegeben). In meiner Meinung nach besseren dagegen sind sie strukturiert. Sie sind bei feuchter Giemsa-Färbung rot azurophil (Fig. 7 *a*—*c*), bei vitaler Azur-II-Färbung desgleichen.

Die gleichen morphologischen Befunde gelten nun für die feinste Zusammensetzung der sogenannten Chlamydozoen-Einschlüsse nach von Prowazek:

Die Einschlüsse bestehen aus einer von der Zelle gelieferten Grundsubstanz, dem Mantel (χλαμὺς). Sie enthalten einen „Restkörper" zentral, der sich ebenfalls nur sehr schwer darstellen läßt. Sie enthalten gröbere Strukturen, die als „Initialkörper" den außerordentlich feinen „Elementarkörnchen" gegenübergestellt werden. Sichtbar ist für gewöhnlich nur der aus Zellteilen hervorgegangene Einschluß. Zum Nachweis der Innenstrukturen bedarf es besonderer differenzierender Färbungen oder partieller Lösung der Grundsubstanz durch Aqua dest. etc.

Die von mir herangezogenen Repräsentanten dieser Chlamydozoen-Einschlüsse, die Guarnieri-Körper, färben sich ebenfalls fixiert mit Giemsa azurophil[1]), mit vitaler Azur-II-Färbung desgleichen (Fig. s. Lit. 2. Tafeln).

Auf Grund obiger detaillierten Befunde hielt ich mich für berechtigt, auf die Aehnlichkeit der Kurloff-Körper mit Chlamydozoen-Einschlüssen hinzuweisen. Ich hielt nur alle von mir beobachteten Strukturen **nicht** für die Parasiten selbst (besonders wegen ihrer metachromatischen Färbbarkeit und wegen ihrer Entstehung). Allein über die Natur der feinen kaum färbbaren Körnchen, die den Elementar-

1) Wenn Pappenheim immer noch (Anmerkung zum Referat Schilling-Torgau. Fol. haem. Bd. 13. Ref. p. 396) schreibt: „Reaktionsprodukte gegen invisibles usw. Chlamydozoenvirus sind doch aber basophil, nicht azurophil", so genügt die einmalige Betrachtung eines richtig (!) nach Giemsa gefärbten Corneaschnittes mit Guarnieri-Körpern, um diese als rot (azurophil) zu erkennen.

körnchen, den eigentlichen filtrierbaren Erregern der Vaccine, entsprechen würden, konnte ich nichts sagen und tat es auch nicht; ich machte so ihre nicht abzuweisende parasitäre Natur von gelingenden Infektionsversuchen abhängig, die bisher aus mancherlei Gründen stets erfolglos blieben.

Da auch nach von Prowazeks Ansicht der Hauptteil des Chlamydozoen-Einschlusses **cellulär** ist, besteht kein Gegensatz zwischen den Auffassungen, nur faßte ich die größeren den Initialkörpern parallel gehenden Stäbchen etc., deren Analogie aber noch keine zwingende ist für die Kurloff-Körper als Zellerzeugnis auf Kurloff-Körper sind ein stets zu erhaltendes Untersuchungsmaterial, und ich hoffte daher weitere Einblicke zu bekommen in den Mechanismus der Entstehung der Reaktionseinschlüsse, über den ja noch sehr gestritten wird. Es müssen das weitere Untersuchungen jedoch erst zeigen.

Die Schlußzusammenfassung meiner ersten Mitteilung enthält alle oben erwähnten Punkte (siehe dieses Centralblatt. Bd. 58. p. 322).

Natürlich ließ ich meine Phagocytosetheorie einfach fallen. Ich fand aber nichts, was für Parasiten im Sinne Patellas gesprochen hätte.

Ich muß es ablehnen, von Patella (8) als Bestätiger seiner Ansichten zitiert zu werden. Vielmehr ist alles, worauf Patella morphologisch seine Parasitenähnlichkeit begründet, eine irrtümliche Auslegung der groben Verklumpungen, wie sie besonders durch Hitzefixationen entstehen; er sah diesen azurfärbbaren Klumpen als Kern, den Rest der Vakuole als Protoplasma an. Vor allem aber hielt er den ganzen Kurloff-Körper für einen einzigen Parasiten. Natürlich wird man gern bestätigen, daß Patella sich nicht durch die Erklärungen als Sekretvakuole befriedigt fühlte und mit Zähigkeit für eine parasitäre Aetiologie eintrat, die er nur meines Erachtens auf irrtümlichem Wege suchte. Die Struktur der von ihm herangezogenen Leukocytozoen und der freien Flagellaten ist eine ganz andere (s. u. Huffman).

Flu-Pappenheim (4) ließen im Januar 1912 eine Studie erscheinen, in der sie auf Grund von Sublimatalkoholfixierungen und Giemsa-Färbungen die Ansichten von Patella-Ledingham wie die von Schilling „auf Grund ihrer histologischen Feststellungen als nicht zu Recht bestehend“ zurückwiesen. Da ich genau die gleichen Methoden mit demselben Befunde, nämlich ganz homogenem Aussehen der Kurloff-Körper publiziert hatte (Lit. 1 Punkt 10b), mußte ich diese unzureichenden Gegenuntersuchungen abweisen, denn meine eigentlichen Befunde waren von den Autoren überhaupt nicht berücksichtigt worden (Lit. 5a).

Die Berechtigung meiner scharfen Kritik an dieser Arbeit Flu-Pappenheims ergibt sich soeben in überzeugendster Weise.

Während Pappenheim noch schreibt (Referat zu E. H. Ross, Fol. haem. Ref. 13. Heft 4. p. 396): Außer der „im Januar des Jahres erschienenen Arbeit Flu-Pappenheims, die die absolute Homogenität der Kurloff-Körper beweist . . .“, liegt bereits eine aus dem gleichen Jahre herrührende Arbeit Flus (11) vor, die nicht allein an dem gleichen Materiale mit anderer Färbung zu gänzlich anderen Resultaten kommt, sondern sogar zu der von mir behaupteten Chlamydozoen-Aehnlichkeit der Einschlüsse.

Es ist also das, was Pappenheim (5b) in seiner Antwort forderte: „Es bliebe jetzt nur übrig, zu erweisen, daß unsere Methode entweder überhaupt ungeeignet ist, oder von uns falsch gehandhabt ist, in anderer Hand aber Protozoenähnlichkeit erzielt“, von seinem eigenen Mitarbeiter in einfacher Weiterverfolgung und mit Berücksichtigung meiner Befunde in meinem Sinne erreicht. Leider zitiert auch jetzt wieder Flu (11) meine Ansichten sehr unvollkommen, so daß sie in der Tat denen Ledinghams sehr ähnlich werden, dessen Befunde ebenfalls nicht richtig dargestellt sind.

Flu (11) bringt an teilweise neuen Befunden:

daß die Kurloff-Körper eine Eigenbewegung haben (bestätigt von de Haan und Grijns). Sie soll sehr langsam amöboid sein

und von der Grundsubstanz ausgeübt werden, wodurch also unwahrscheinlich würde, daß diese ein Reaktionsprodukt des Mononukleären ist;

daß man auch durch Färbung mit Sublimat fixierter Kurloff-Körper nach einer von ihm modifizierten Stutzerschen Methode mit Loeffler-Methylenblau Bilder erhält, die morphologisch mit den sogenannten Chlamydozoen übereinstimmen.

Von E. H. Ross wird eine Arbeit Hunters[1]) angeführt, die mir nicht zugänglich war. In dieser sollen die amöboiden Bewegungen freier Kurloff-Körper bereits erwähnt sein. Ich werde auf diese nach meiner Meinung nur scheinbaren Bewegungen im zweiten Teile eingehen, ebenso wie auf die Deutung der von Flu erzielten Färbungen.

Flu unterscheidet nunmehr an den homogenen Einschlüssen auch: Restkörper, größere Initialkörper, freie Elementarkörnchen und Grundsubstanz; er kann sich ebenfalls (siehe meine erste Mitteilung p. 325) nicht für die absolute Identität mit Chlamydozoeneinschlüssen entscheiden, bevor nicht die Infektionsversuche gelungen sind und einige Differenzen in der Färbung erklärt sind.

Die Arbeit von V. Huffmann (3) wendet sich besonders gegen die Patellasche Ansicht der Flagellatennatur und bringt eine größere Reihe von Untersuchungen, die die völlige Unhaltbarkeit dieser Anschauung auch besonders mit experimentellen Methoden belegt. Die von Patella als freie Flagellaten auf dem Endivienfutter beschriebenen Parasiten sind harmlose Bodo-Arten, deren Einwanderung auf dem Darmwege nicht nachzuweisen war. Theoretisch und morphologisch enthält die Arbeit kaum Neues.

Ganz besondere neue Anschauungen brachten die Arbeiten von E. H. Ross (6, 7) und die durch seine Untersuchungen weiterhin hervorgerufenen Arbeiten.

E. H. Ross (6) gebrauchte eine Methode, die im Jahre 1909 von H. C. Ross angegeben war; sie besteht in der Anwendung eines gefärbten Agargemisches, auf der das zu färbende Material unter Deckglas ausgebreitet wird. Im wesentlichen ist es eine Azur-Vitalfärbung, die durch die Agaranwendung etwas kompliziert wird.

E. H. Ross (6) wandte diese neue Methode etwas modifiziert systematisch auf die Kurloff-Körper an und hielt 1912 den ersten Vortrag über seine Befunde. Die von Ross gegebenen Abbildungen (6) lassen erkennen, daß er die von mir bereits beschriebenen Fadenstrukturen und vor allem gerade lange Stäbchen mit geißelartigen Anhängen (s. meine 1. Mitteilung Fig. 22), endlich spirochätenartige Formen (s. meine 1. Mitteilung, Fig. 15) in einer weniger deutlichen Form teilweise erhielt; gerade der eigentliche Teilungsprozeß der jüngeren Formen ist von Ross nicht deutlich gegeben. Ross (6, 7) kam allerdings zu wesentlich anderen Deutungen. Er sah diese metachromatisch färbbaren, mit keiner anderen Methode darstellbaren Gebilde für protozoenartige Parasiten selbst an, die sich hier in einer Art intracellulären Entwickelung ausbildeten und frei würden.

Ganz neu war die Beobachtung solcher tatsächlich frei gewordener, lebhaft beweglicher, spirochätenartiger Parasiten im Meerschweinchenblute, die Ross im Dunkelfelde beschreibt; diese freien Formen hat Ross nach ihrer besseren Entwickelung durch Zusatz von „Globin“ (Lösung von Hitze gefälltem Hämoglobin) bei Brutschrank-Temperatur auch in gewöhnlichen fixierten und gefärbten Präparaten dargestellt; er bemerkt, daß sie allerdings etwas mazeriert aussehen. Im allgemeinen vergleicht er die gefundenen Parasiten etwa mit den „latent bodies“ (Breinl and Moore); die spirochätenartigen Körper könnten „sperms“ eines größeren Parasiten sein.

Als pathologische Erscheinungen der befallenen Meerschweinchen werden leichte Anämie und weißliche (gummöse, Lit. 7) Verdichtungen in Leber und Milz beschrieben. Nach Ross' Untersuchungen bestehen diese aus Ansammlungen von großen Mononukleären mit Kurloff-Körpern; diese herdartige Ansammlung der Kurloff-Körper war mikroskopisch bereits für die Milz von mir erwähnt (1. Mitteilung, Punkt 13). Es wird weiter berichtet, daß das Blut eines Tieres meist die gleichen Entwickelungsstadien

1) cf. Fol. haematol. Bd. 12. No. 15. Referat.

enthielte und deshalb der Entwickelungsprozeß durch stündliche oder tägliche Beobachtung erst sukzessive zu erhalten wäre Diese Angabe ist kaum richtig; das Blut, mehr noch die Milz der positiven Tiere enthalten stets die verschiedensten Stadien nebeneinander, wie eine vitale Azur-II-Färbung von etwas Milzbrei rasch ergibt. Daß Ross stets nur eine Erscheinungsform der Kurloff-Körper zur Zeit im Blut fand, beruht auf der Gleichmäßigkeit und Intensität seiner Färbung, die z. B. alle Kurloff-Körper mit dicken Körnern oder mit plumpen Stäbchen, selten nur in den zierlichen Färbungen gleichzeitiger Azur II-Färbungen nach meiner Anordnung zeigt. Herr Fox (Philadelphia), der Ross aufgesucht hatte, bezeichnete mir gleichzeitig entnommene Blutpräparate z. B. bei Rossscher Färbung alle als sexuelle, bei meiner Färbung alle als asexuelle ganz verschiedene Entwickelungsstadien des „Lymphocytozoons“ Ross; er war erstaunt, die nach Ross weit auseinander liegenden Entwickelungsformen, deren Zyklus mehrere Tage erfordern soll, plötzlich durch Umänderung der Färbung direkt ineinander überführen zu können.

E. H. Ross (6) faßt seine Beobachtungen zusammen: die Kurloff-Körper sind Lymphocytozoen der Mononukleären des Meerschweinchens; diese haben ein intrakorpuskuläres Stadium und erzeugen zuletzt frei schwimmende, spirochätenartige Körper, die Gameten sein könnten. Die Entwickelung dieser Gebilde wurde gezeigt und als Name wird „Lymphocytozoon cobayae“ vorgeschlagen.

E. H. Ross (7) gibt in seiner weiteren Mitteilung an, daß die Entwickelungsstadien seines Lymphocytozoon erst durch die Agarmethode gelungen wäre; das dürfte angesichts der Tafel meiner 1. Mitteilung (1) nicht richtig sein, die gerade diese Entwickelung demonstrierte (Lit. 9). Die weiter in dieser Arbeit angeführten Analogieen mit angeblich ganz entsprechenden Entwickelungsstadien von Spirochäten beim Regenwurm (Cropper) und bei der menschlichen Lues (die sofort von anderen Seiten bestätigt wurden (Jennings, Moolgavkar, McDonagh), können in dieser Spezialarbeit leider nicht mehr ausführlich besprochen werden. Ihre Bestätigung würde sehr zugunsten von Ross sprechen und eine sehr erhebliche Tragweite haben; ich stehe jedoch vorläufig aus den im zweiten Teil ausgeführten Gründen auf einem anderen, d. h. meinem alten Standpunkte (s. Zusatz am Schluß).

Ganz zum Schluß weist Ross (7) übrigens in einer Arbeitshypothese auf die Guarnieri-Körper und die „Chlamydozoen“ ebenfalls hin.

Schließlich muß ich noch meine eigenen Arbeiten nach meiner ersten Mitteilung (2) erwähnen[1]). Ich zog die Kurloff-Körper bei der Betrachtung eigenartiger Zellstrukturen, die sich meiner Meinung nach aus dem Archoplasma physiologisch und pathologisch zu bilden vermögen, mit heran.

Die beschriebenen Strukturen der Kurloff-Körper hatte ich durchaus für Zellreaktionsprodukte gehalten, bis auf die weiter histologisch noch nicht klärbaren schwer zu färbenden Körnchen. Ich glaubte, mit diesem Material vielleicht in das Geheimnis dringen zu können, warum alle die doch recht verschiedenartigen Zellreaktionsprodukte der verschiedenen Chlamydozoen eine so übereinstimmende Struktur aus Grundsubstanz, gröberen Partikeln und Innen- oder Restkörpern, abgesehen von den Erregern, haben könnten. Die zusammensetzenden Substanzen sind nach v. Prowazek plastin- und chromatinartige Reaktionsprodukte der Zelle.

Ich mußte ferner eine mögliche Erklärung geben, wie eine so eigenartige fortschreitende Entwickelung(!) dieser ganz neuartigen Stäbchen etc. mit Zellbestandteilen zu vereinigen wäre.

Ein Weg zur Lösung dieser Fragen schien mir vorläufig rein hypothetisch möglich, als ich diese seltsamen Strukturen verglich mit den neuen Forschungen der Histologen über den Archoplasmenapparat der Metazoenzellen, vor allen mit den Heidenhainschen Gitterkapseln, den Ballowitzschen Centrophormien, den Perroncitoschen Diktyosomenzyklen[2]), die mit den Golgi-Netzen etc. enge Berührungspunkte zu haben scheinen. Es war hier eine große Menge sehr auffallender Strukturen als histologische Zellbestandteile beschrieben, die morphologisch mir viel Vergleichbares zu haben schienen und sich auch paranukleär aus kleinen Körperchen teil-

1) Die gesamten früheren Zeichnungen und ein Teil der Präparate wurden im November 1911 in der Biologischen Abteilung des Hamburger ärztlichen Vereins bereits in zwei Vorträgen vorgeführt.

2) Auf diese machte Prof. Unna mich freundlichst nach dem Vortrage aufmerksam.

weise wachsend und zyklisch entwickeln. Sie haben die gleiche Grundstruktur im ganzen gemeinsam: in einem mehr oder weniger scharf abgegrenzten helleren Protoplasma (Sphäre im weiteren Sinne) befindet sich ein meist schwer darstellbarer Innenkörper (Sphäre im engeren Sinne, Idiozoma etc.); dieser innere Körper wird umgeben von gröberen fädigen, gut färbbaren, korbartigen Strukturen, die eine fortschreitende, vielleicht zyklische Entwickelung durchmachen (Archoplasmaschleifen, Centrophormien, Pseudochromosomen, Golginetze, Diktyosomenapparat usw.; die genaue Identifizierung dieser Gebilde ist noch nicht immer durchgeführt). Da diese früher erschienenen Arbeiten von Ross und Flu noch nicht erwähnt werden und da die Kurloff-Körper noch nicht mit Sicherheit damit identifiziert werden konnten, sehe ich hier von einer weiteren Darstellung ab.

Eine neue Modifikation der Sekrettheorie für die Kurloff-Körper wird von W. Kolmer (Lit. 12) gegeben. In Analogie mit sehr seltsamen Zellreaktionseinschlüssen in der Nebenniere sieht K. auch die Kurloff-Körper für sexuell beeinflußte Sekretionen an, wofür die Zunahme in der Trächtigkeit besonders spricht. Die Stelle einer Viruseinwirkung würde hier plausibel durch Hormone etc. vertreten. Selbstverständlich bliebe die Deutung meiner morphologischen Befunde die gleiche, bis auf die „Elementar"-Körnchen, deren von mir offen gelassene parasitäre Erklärung damit ganz aufgehoben würde.

Ueber die Verbreitung der Kurloff-Körper liegen ebenfalls einige Daten vor.

Carini (10) fand sie bei den wilden Verwandten unseres Meerschweinchens, bei Cavia prea, in Brasilien.

Flu (11) fand in Weltevreden (Bahia) stärkere Infektion im allgemeinen.

v. Prowazek[1]) brachte Ausstrichpräparate aus Samoa mit von Flughunden (Pteropus), bei denen er sehr ähnliche Gebilde fand; nach Einsicht der Präparate scheinen mir diese Einschlüsse bei weitem die größte Aehnlichkeit von allen sonst bei anderen Tieren gefundenen Einschlüssen zu haben. Da es sich um ein den Meerschweinchen sehr fernstehendes Tier handelt, ist der Befund für eine infektiöse Aetiologie irgendwelcher Art deutbar.

Zusammenfassung.

Bei der großen Kompliziertheit der verschiedenen, schon in Kollision geratenen Meinungen fasse ich die wesentlichen Punkte, die augenblicklich interessieren, noch einmal zusammen:

1) Ehrlich sprach von einer (in das Gebiet des Nebenkernes vielleicht gehörigen?) Sekretvakuole.

2) Ledingham trat für eine parasitäre Aetiologie ein und läßt es dahingestellt, ob es sich um ein Leukozytozoon oder um einen, dem Cytorryctes Guarnieri ähnlichen Einschluß handelt; für letzteres spricht besonders die morphologische Struktur im gefärbten Trockenpräparat. Er beschreibt schon verschiedene Innenstrukturen nach Alkoholfixierungen und Vitalfärbungen.

3) Patella sieht den ganzen Kurloff-Körper für ein Protozoon, und zwar einen Flagellaten an; er unterscheidet Kern und Protoplasma.

4) Pappenheim-Ferrata halten die Kurloff-Körper für große azurophile Plasmosomen, also ganz homogene Sekretvakuolen.

5) Schilling-Torgau stellte die bekannten unregelmäßigen, vitalfärbbaren Strukturen mit einer für Kurloff-Körper neuen Modifikation (Azur-II) in so scharfer Form dar, daß ihre Erklärung als Kunstprodukte nicht mehr annehmbar schien, vielmehr eine Art Entwickelung von kom-

1) Mündliche Mitteilung.

pakten, kernanliegenden Ausgangskörperchen durch hantelartige Teilungen bis zu Stäbchen und Diplokokken anzunehmen war; faden- und spirochätenartige Stadien wurden beobachtet, die jedoch nicht strikte eingeordnet werden konnten.

Sch. stellte weiter an fixierten und vitalen Präparationen das Vorhandensein einer anscheinend gallertigen Grundsubstanz, eines schwer darstellbaren Innenkörpers und zahlreicher, zwischen den vital-metachromatischen Strukturen kaum färbbarer, gerade noch sichtbarer Körnchen fest. Auf Grund dieser mit der allgemeinen Zusammensetzung der Chlamydozoen-Einschlüsse (Grundsubstanz, Restkörper, gröbere Initialkörper, Elementarkörner) morphologisch übereinstimmenden Struktur, wegen der paranukleären Entwicklung und wegen des übereinstimmenden Verhaltens der jüngeren Formen bei vitaler und Azur-Schnittfärbung, machte er auf die Aehnlichkeit der Kurloff-Körper mit den Einschlüssen bei Chlamydozoen-Krankheiten aufmerksam; er betont aber, daß zu einer völligen Identifizierung Infektionsversuche abzuwarten wären und daß die den Initialkörpern morphologisch parallelen Stäbchen etc. (wegen ihrer Metachromasie) als Zellreaktionsprodukte bei den Kurloff-Körpern aufzufassen seien.

6) Schilling-Torgau führt in weiteren Mitteilungen aus, wie durch Umwandlung von archoplasmatischen Strukturen der Zelle auf irgendeinen Reiz hin die Entstehung so komplizierter Gebilde hypothetisch möglich wäre, ohne daß bei den zyklischen Entwickelungen an wirkliche Parasiten gedacht zu werden braucht, von den feinen (Elementar-)Körnchen abgesehen.

7) Flu-Pappenheim glaubten die ganz homogene Zusammensetzung an fixierten Kurloff-Körpern bewiesen zu haben gegenüber allen Behauptungen ihrer Struktur.

8) E. H. Ross findet mit einer Azur-Agarmethode auch den beschriebenen Entwickelungsgang der metachromatisch färbbaren Stäbchen etc., hält dieselben aber für intrakorpuskuläre Entwickelungen eines spirochätenartigen Lymphocytozoons, das er frei werdend beweglich gesehen und fixiert gefärbt hat. Analoge Entwickelungen von Spirochäten soll es beim Regenwurm, nach den letzten Mitteilungen auch bei der Syphilis des Menschen geben.

9) Flu setzte die mit Pappenheim begonnenen Studien fort und gelangt jetzt mit Schilling-Torgau zu der Ansicht einer komplizierten Morphologie der Kurloff-Körper und einer morphologischen Vergleichbarkeit mit Chlamydozoen-Einschlüssen. Er unterscheidet mit eigener Methode ebenfalls Grundsubstanz, gröbere Initialkörper und feinere Elementarkörnchen, sowie einen Restkörper. An einer völligen Identifizierung hindern ihn die gleichen Gründe: andere Färbbarkeit der Strukturen als die der echten Initialkörper etc. und Mangel des Nachweises einer Infektiosität. Er hält aber die Grundsubstanz für anscheinend kein Reaktionsprodukt der Zelle wegen ihrer angeblich amöboiden Beweglichkeit.

B. Neue eigene Untersuchungen über die Strukturen der Kurloff-Körper.

Meine am Schluß der ersten Mitteilung dieser Zeitschrift im Gange befindlichen Infektionsversuche haben nur negative Resultate er-

geben. Ich versuchte die isolierte Aufzucht von jungen Meerschweinchen; sie gingen aber immer bei Milchernährung und gemischter Kost ohne die Mutter sehr bald an eigentümlichen asphyktischen, oft mit Lähmungen einhergehenden Zuständen zugrunde. Selbst die Milz war bei einem Alter unter etwa 3 Wochen stets frei von Kurloff-Körpern. Die künstliche Infektion solcher bisher freien Tiere gelang nicht; wenigstens zeigten sie die Kurloff-Körper nicht früher als unbehandelte Kontrollen.

Ein Meerschweinchen von etwa 4 Monaten, das mit Phenylhydrazin wiederholt gespritzt war, wies keine Kurloff-Körper mehr auf. Es wurde Infektion von der Bauchhöhle aus mit Milzbrei voller Kurloff-Körper ohne Erfolg versucht. Das sehr anämische Tier starb nach 14 Tagen; die Milz war frei von Kurloff-Körpern.

Weiteres anwendbares Tiermaterial war nicht zu erzielen, da selbst scheinbar freie Tiere des Alters über etwa 4 Wochen stets einige Einschlüsse in der Milz zeigten. Tiere, die mit Mutter isoliert wurden, wiesen die Kurloff-Körper meist nach 6 Wochen schon im peripheren Blute auf, Männchen wie Weibchen, auch wenn sie nach der Entwöhnung isoliert wurden.

Diese Beobachtungen sprechen mit Deutlichkeit dafür, daß die Infektion, wenn es eine ist, durch den Geschlechtsakt in der Regel nicht erfolgt, wie Ross das annimmt. Cropper soll dagegen in der Bauchhöhle junger Meerschweinchen den Parasiten gefunden haben [Ross (7) l. c. Anm. p. 1652].

Etwas gegen die Spirochäten-Aetiologie dürfte auch sprechen, daß auf ein- bis zweimalige Injektion von Salvarsan in höchsten Dosen keine Verringerung der Kurloff-Körper eintrat. Ich habe aber nur vier Versuche gemacht und es könnten ja gerade diese cystischen Stadien refraktär sein [1]).

Die Fragen, die mich weiter beschäftigten, waren:

1) Ist am Kurloff-Körper durch irgendwelche Methodik etwas von der darstellbaren Struktur ungefärbt zu erkennen und damit das Bestehen derselben zu sichern?

2) Sind Erscheinungen direkt vitaler Art außer dem Wachstum nachweisbar?

3) Sind die von mir vital dargestellten Strukturen mit Azur-II wirklich richtiger als die schon bekannten grobfleckigen Vitalfärbungen mit Neutralrot etc.?

4) Wie sind die im fixierten Material erhaltenen Färbungen und Strukturen mit meinen Vitalfärbungen genauer zu identifizieren und eventuell parasitär zu definieren?

1. Beobachtungen ohne Färbung.

Das unfixierte natürliche Körperchen erscheint fast stets lichtbrechend homogen. Stellt man jedoch den oberen Wandteil scharf ein, so erscheint die vorher scharfrandige Abgrenzung der lichtbrechenden Vakuole oft deutlich gesägt oder chagriniert, so daß eine dicht der Oberfläche anliegende Struktur recht annehmbar ist.

---

1) Da nach Ross die „Spirochäten" stets im Blute kreisen und da dauernd alle Entwickelungsstadien zu finden sind, müßte jedenfalls mit der Zeit auf wiederholte Injektion ein Verschwinden eintreten, selbst wenn die anderen Stadien resistent sind (wie z. B. bei Malaria).

Im Dunkelfeld ist ein opaker Glanz mit einigen ebenfalls anscheinend oberflächlichen Unebenheiten und feinen rötlichen Strichelchen dementsprechend erkennbar.

Ueber die Sichtbarkeit heller Stellen, stäbchenartiger und diplokokkenartiger Zeichnungen im fixierten Zustande hatte ich bei gefärbtem Untergrunde berichtet (1. Mitt. Punkt 10 c). Sie ist auch ohne Färbung bei gut ausgebreitetem Material (feucht fixierte Ausstriche) und starker Abblendung erkennbar. Einige Male waren ganz deutlich Hantelstäbchen in oberflächlicher Lage zu sehen.

Die Homogenität schien also eine Täuschung durch die sehr starke Lichtbrechung der Grundsubstanz, wie sie ja auch z. B. für die Erythrocyten, selbst kernhaltige, bekannt ist.

Es kam also darauf an, diese lichtbrechende Kraft herabzusetzen.

Die zuerst versuchten zerstörenden Lösungen wie besonders Saponin in verschiedenen Abstufungen, lösten anscheinend die Grundsubstanz später als die mir ja schon als sehr variabel bekannten Stäbchen etc. Die ganzen Körperchen leisteten eine Weile, meist länger als Zellkern und Protoplasma, Widerstand, um dann wie Zucker fortzuschmelzen.

Bessere Erfolge erzielte ich mit einfachem destillierten Wasser bzw. dünnen NaCl-Lösungen unter 0,5.

Die Kurloff-Körper erwiesen sich sehr viel resistenter als die Erythrocyten, die längst hämolysiert waren, wenn die Kurloff-Körper sichtliche Quellung zeigten. Ihre Quellung hielt etwa mit derjenigen der granulierten Leukocyten Schritt.

Meist führte ich der Bequemlichkeit halber und um Tiermaterial zu sparen, die Untersuchungen direkt an jedesmal frisch entnommenen Blutstropfen eines tragenden Meerschweinchens aus, die ja stets starke Aufschwemmungen von großen Mononukleären mit Kurloff-Körpern im Blute haben. Die genaue Verdünnung läßt sich allerdings infolge des Serums so nicht angeben. Die Zusatzflüssigkeit wird vorher auf das Deckgläschen gebracht und mit dem Blute schnell vermengt; empfehlenswerter ist aber das Durchsaugen mit Fließpapier von der Seite her, während man ein großes Kurloff-Körperchen eingestellt hat und beobachtet.

Geschieht die Quellung mit mittlerer Schnelligkeit, so gelingt es nicht so selten, sehr interessante Bilder zu erhalten.

Sobald der ehemalige Durchmesser des Körperchens etwa um ein Drittel überschritten ist und die Lichtbrechung erheblich abgenommen hat, gelingt es im Dunkelfeld und in durchfallender Beleuchtung oft sehr deutlich, eine dem früheren Umfange entsprechende zarte Schattierung zu erkennen, die selbst bei mehr als doppelter Vergrößerung in der immer durchsichtigeren Vakuole noch erhalten bleiben kann. In diesem Stadium sieht man in dem vergrößerten Bezirke oder in der ganzen Masse bei günstiger Beleuchtung und flachster Ausbreitung außerordentlich feine, in schnellster Durcheinanderbewegung befindliche Körnchen (molekular).

Das Kurloff-Körperchen pflegt nun, etwa gleichzeitig mit den feingekörnten Leukocyten, zu platzen. Kurz vorher oder im gleichen Augenblick sinkt die beschriebene alte Umrißlinie meist nach der Zellkernseite zu zusammen; überhaupt liegt die ganze Zeichnung in der Regel exzentrisch wandständig nach dem Kern zu in der Quellungsvakuole (diesen Stadien entspricht gefärbt Fig. 2*c*, Taf. I).

Im Augenblicke des Platzens war im Dunkelfelde bei sehr heller Belichtung und gut schwarzem Grunde eine Wolke von heraustretendem opaken Inhalte zu erkennen (diesem Stadium entspricht gefärbt Fig. 2*g* u. *h*, Taf. I), der sich sofort zerstreute und aus Körn-

chen zu bestehen schien, die jedoch nicht annähernd die Größe von den bei Epithelioma contagisoum des Menschen beschriebenen besaßen (s. Centralbl. f. Bakt. Bd. 63. p. 398. Anmerkung), und isoliert nicht mit Sicherheit gesehen wurden.

Fassen wir diese Beobachtungen zusammen, so erhalten wir:

Es läßt sich am unveränderten natürlichen und deutlicher am gequollenen oder gar zum Platzen gebrachten Kurloff-Körperchen das Vorhandensein einer lichtbrechenden, verdünn- und quellbaren Grundsubstanz einer der Oberfläche dicht anliegenden, etwas stabileren Struktur und anscheinend endlich sehr feiner, in der Grundsubstanz molekular tanzender Körnchen zeigen.

2. Vitale Erscheinungen.

Weiter wurden Versuche bezüglich vitaler Bewegungsäußerungen der ganzen Kurloff-Körper gemacht.

Es gelang mir niemals, wie allen bisherigen Untersuchern, mit Ausnahme von Ross und Patella, weder ein Ausschlüpfen, noch Geißelbildung, noch Austreten von lebenden Spirochäten zu beobachten. Ich untersuchte Deckglaskulturen bei den verschiedensten Temperaturen und verschiedensten Alters aus Blut und Milz, ohne je wirkliche bewegliche Parasiten zu entdecken. Allein in Deckglaskulturen von 4—8 Stunden bei ständiger Beobachtung im geheizten Mikroskop sah ich etwas den Ross schen Beschreibungen Entsprechendes. Es zeigen sich an den Enden scheinbar geknöpfte Fäden, die mit welligen Verbiegungen schlängelnd im Strome treiben, etwa den doppelten Durchmesser eines Blutkörperchens lang sind und entfernte Aehnlichkeit mit Spirochäten von geringer Wellenzahl und träger Bewegung haben können.

Die letzten mir erinnerlichen Abbildungen hat Seidelin gegeben (Yellow fever Bureau II. 2. 1912. p. 187).

Es ist wohl unzweifelhaft, daß diese Gebilde „Pseudospirochäten", vor denen schon so viele Hämatologen gewarnt haben, keine Parasiten sind. Seidelin, der sie bei Gesunden fand, aber nicht so zahlreich, wie bei Gelbfieberkranken, bildet sie auch im gefärbten Präparate ab; er leitet sie von den Blutplättchen her; im allgemeinen sieht man sie als Lipoidgebilde an, die aus der Erythrocytenmembran bei Erwärmung hervorgehen. Ein Hervorgehen aus Kurloff-Körpern wurde nie gesehen.

Daß Ross diese Gebilde wirklich verwechselt hat, kann ich natürlich nicht behaupten. Man sollte sie bei Nachuntersuchungen nur ausdrücklich berücksichtigen. Es muß aber zu denken geben, daß Ross (6, 7) nirgends erwähnt, daß er direkt das Platzen der „Cysten" und das Abschwimmen der Spirochäten gesehen hat.

Weiter ist sehr auffallend, daß die lange Zeit im geheizten Mikroskop beobachteten großen Kurloff-Körper niemals eine innere Bewegung oder schnelle Ausstülpungen der Membran erkennen ließen, auch wenn sie sich bei dem nachherigen Zusatz von Azur II voll von spirochätoiden Fäden erwiesen.

Endlich gilt das gleiche von den oben beschriebenen Quellungsversuchen; nie gelang es eine Spirochäte ungefärbt zu isolieren, obgleich diese gerade bekannterweise sehr resistent gegen Auflösung sind!! Ross entschuldigt den schweren Nachweis der lebenden Spirochäten

im einfachen Präparat mit ihrer schnellen Abtötung durch die Farbstoffe. Daß aber auch verdünnte Kochsalzlösungen so schnell auf Spirochäten wirken, ist nicht wahrscheinlich. Es gelang weder durch langsames, noch durch schnelles Sprengen geeigneter Kurloff-Körper lebende oder tote Spirochäten zu zeigen.

Wenn auch nach vielen Erfahrungen der Protozoologie negative Untersuchungen nicht immer richtig sind, so halte ich diesen vergeblichen Versuchen gegenüber die bisherigen Angaben von Ross nicht für beweiskräftig.

Flu (11), der anscheinend die Kurloff-Körper doch als Protozoologe besonders genau vital studiert hat, berichtet nur von sehr langsamen amöboiden Bewegungen der ganzen Masse. Diese sind mir in der aus Flus Zeichnungen hervorgehenden Form und Intensität recht gut bekannt und ich kann das Faktum durchaus bestätigen. Ich wies in meiner ersten Mitteilung ganz kurz auf sie hin mit dem Ausdruck „osmotische" Bewegungen. Dieser Ansicht bin ich noch; es scheint mir eher, als ob die langsamen osmotischen Vorgänge während des Stehens im geheizten Präparat, die zu einer sehr mäßigen, aber wahrnehmbaren Vergrößerung des Kurloff-Körperchens führen, an diesen Verschiebungen der Form schuld sind. An den Erythrocyten kann man sehr ähnliche Vortreibungen kleiner Wülste, Wiederglattwerden und neue Faltungen beobachten, die bei der dichteren Konsistenz des Kurloff-Körperchens abgerundeter erscheinen mögen. Bei meinen Quellungsversuchen beobachtete ich die Bewegungen oft sehr viel stärker.

Gesetzt aber die Richtigkeit der Fluschen Erklärung, so gibt diese Beobachtung uns bezüglich der Chlamydozoenlehre, wie Flu auch sagt, die neue Auffassung, daß der große Mononukleäre, die Zelle selbst, ganz unbeteiligt an der Bildung des Einschlusses sein und daß man an ein richtiges Protoplasma, keine einfache Kittsubstanz für die Chlamydozoen-Kolonie in ihm denken müßte. Andererseits wissen wir aber sehr wohl, daß die beliebigsten Zellbröckel und Zellteile geringer amöboider Bewegung fähig sind (z. B. Blutplättchen). Ist es da nicht etwas sehr gewagt, wenn Flu dieser wenig prägnanten und viel deutbaren Beobachtung eine in die Augen springende Bedeutung beilegt und so umwälzende Anschauungen damit begründet?

Meiner Beobachtung nach zeigt also das Studium der Kurloff-Körper im vitalen Zustande ohne Färbung selbst bei den verschiedensten Methoden, bei 37° etc. niemals Bewegungen, die auf eine parasitäre Natur des ganzen Einschlusses im Patella'schen Sinne oder auf eine **notwendig** parasitäre Natur der Grundsubstanz nach Flu schließen ließe. Desgleichen konnte ich weder intrakorpuskuläre, noch frei werdende spirochätenartige Parasiten auffinden, noch freie parasitäre Lymphocytozoen (Ross) bisher entdecken.

3. Untersuchungen über die Realität der Azur-II-Vitalstrukturen und ihre substantiellen Eigenschaften.

Bei der Demonstration meiner sehr seltsamen Strukturen in den Kurloff-Körpern mit Azur-II-Färbung, der geknöpften Stäbchen, Trommelschlegelformen, der gewundenen Schleifen, Spirillen, Spirochätoide, der Fäden, Fadenknäuel etc. der Diplokokken- und Kokkenformen

bin ich natürlich sehr häufig dem Worte „Kunstprodukt“ begegnet (siehe die Tafeln zu Lit. 1, 2 und am Schluß).

Angesichts so neuer und bisher kaum in der Form irgendwo beobachteter Gebilde in Körpern, die bei so und so vielen gebräuchlichen Methoden als homogen beschrieben (s. Fig. 7 *a*—7 *c*) und vital ohne Behandlung nie anders gesehen waren, ist das nicht verwunderlich, obgleich es unsere Kenntnis nicht gerade bereichert. Selbst wenn diese Strukturen nicht naturwahr sein sollten, fordert die Seltsamkeit ihrer Formen die unzweifelhafte Präzision ihrer Darstellung dringend zu ihrer Erklärung auf.

Bereits in meiner ersten Mitteilung hatte ich mich einiger Zweifel selbst nicht erwehren können und folgende Punkte dagegen angeführt:

Die Azur-II-Färbung ist nach anderen Beobachtungen eine schonendere, langsamer färbende Substanz, als Brillant-Kresylblau, Methythylenblau, Neutralrot etc. Die groben, mit diesen Färbungen schnell auftretenden Fleckungen die ja längst bekannt waren (Cesaris-Demel, Ledingham, Pappenheim u. a.) scheinen Verklumpungen der eigentlichen Strukturen zu sein und es lassen sich in der Tat auch durch Azur II solche amorphen Färbungen erzielen, wenn die Kurloff-Körper zu lange oder zu intensiv oder in geschädigtem Zustande (s. Fig. 1 *a*—*f*) mit Azur gefärbt werden (Lit. 1. Punkt 10 d).

Die mit Azur II einmal dargestellten Strukturen lassen sich fixieren (besonders schön mit Osmium) (Fig. 8 *b*; 9; 10 *a* u. *b*).

Sie halten einfache Eintrocknung aus (Fig. 2 *a*—*f*).

Fixierte Strukturen lassen sich mit Giemsa z. B. umfärben; die mit Neutralrot goldgelben Gebilde sind nach Giemsa-Färbung azurophilrot (Fig. 8 *b*).

Endlich hatte ich auf die schon besprochenen Strukturzeichnungen, Vakuolen in Stäbchenform etc. im fixierten Material und bei Färbung der Grundsubstanz hingewiesen, die mindestens angezeigten, daß eine Homogenität auch bei diesen Methoden nicht wirklich war.

Beobachten wir den Färbungsprozeß der Kurloff-Körper durch vitale Azur-II-Färbung ganz genau, so spricht alles eigentlich für Struktur.

Technik: Man verfährt folgendermaßen: auf einen sehr sauberen Objektträger wird ein Tröpfchen einer alkoholischen, am besten älteren Azur-II-Lösung ($^1/_4$—$^1/_2$ Proz.) mit Glasstab zu dünner Schicht ausgebreitet. Nach dem Trocknen bleibt ein zarter graurötlicher Ueberzug des Glases zurück. Auf diese Schicht wird ein größeres, sehr sauberes Deckglas mit Kurloff-Körper enthaltendem Blute, am besten eines tragenden Meerschweinchens, behutsam aufgelegt. Der Tropfen soll so bemessen sein, daß nach der spontanen Ausbreitung rings ein freier Raum unter dem Deckglase bleibt. Die Schicht ist von selbst in sehr günstiger Dicke, wenn kein Staubkörnchen, Ohrhaar des Meerschweinchens etc. die kapilläre Ausbreitung stört. Man sieht vom Rande her Farbstreifen in die Blutschicht hineinragen, so daß nach der Mitte zu fortschreitend immer weniger Farbstoff einwirkt und man ganz gute Gelegenheit hat, den Färbevorgang mehrmals und in verschiedener Intensität nach der Mitte zu fortschreitend zu beobachten.

Nach einigen Minuten, je nach der Stärke der Farbwirkung, sehen wir in den Randzonen unseres Präparates in den lichtbrechenden leicht erkennbaren Kurloff-Körpern eine Aenderung in der Brechbarkeit, die zuerst nur als Pünktchen hier und da an der Oberfläche auffällt. Wir stellen ein größeres Kurloff-Körperchen ein. Durch Drehung der Mikrometerschraube kann man sich sehr bald überzeugen, daß das vermeintliche Pünktchen eine Fortsetzung in die Tiefe der lichtbrechenden Grundsubstanz besitzt und in ihr optisch schließlich verschwindet. Handelt es sich um ein größeres Fadenstadium, so können wir unter

Umständen weitere Windungen an der Oberfläche erkennen und mit fortschreitender Deutlichkeit ihre optische Verbindung beobachten. Immer erscheint es so, als ob ein erst nur durch Aenderung der Lichtbrechung sichtbar werdendes Gebilde, das präformiert in seiner ganzen Gestalt vorhanden war, allmählich grau, dann rosa, endlich immer intensiver metachromatisch azurrot hervortritt (z. B. Fig. 4*a*, 4*b*, 4*c*).

Hatten wir zufällig ein Stäbchenstadium vor uns, so beobachten wir bei den erkennbaren ersten Schatten sofort Stäbchenform und eine mit Zeichnung kontrollierbare unveränderte Lagerung an den gleichen Stellen vom ersten Beginn des Auftauchens bis zur vollendeten klaren Erkennbarkeit.

In Diplokokkenstadien tauchen die einzelnen Doppelkörnchen oft sehr hübsch erkennbar nicht alle gleichzeitig auf, sondern etwa wie die Kerne eines unter dem Mikroskop gefärbten Schnittes hier und dort, früher oder später, aber stets von Anfang an in unveränderter, starrer Verteilung und absolut gleichbleibender Form wie präformierte Gebilde.

Würden wir es mit kristallinischen Prozessen zu tun haben, woran manche glatte nadelartige Stäbchen wohl denken lassen könnten, würde der Vorgang unzweifelhaft in der bekannten Wachstumsart von Kristallen erfolgen müssen, d. h. das einzelne Stäbchen oder besonders längere Formen müßten von Punkten aus vorschießen und sich durch Apposition vergrößern. Richtige Kristalle des Farbstoffes ließen sich auch nicht fixieren und umfärben. Uebrigens sind unter den Pigmenten und bei den Granulationen der Leukocyten (Reptilien, Vögel) sowie bei Chondriokonten kristalloide Formen der doch als Strukturen bezeichneten Zellbestandteile nicht selten.

Das sukzessive Zunehmen der Färbungsintensität von grau über rosa zu violettrot ist ein bei allen Azurfärbungen von Strukturen zu beobachtender Vorgang, der bei Kristallen des Farbstoffes schwer vorstellbar wäre.

Viel komplizierter gestaltet sich die Frage bei der Neutralrot-Vitalfärbung wegen ihrer sehr merkwürdigen Verschiedenheit (Textfigur).

Vitale Neutralrotfärbung im peripheren Blute. Neutralrotfiguren.

Setzt man den Farbstoff intensiv z. B. in NaCl-Lösung vom Rande her zu, so sieht man äußerst verschiedene Figuren in den Kurloff-Körpern auftreten. Die auffallendste ist eine kernartige kompakte Zeichnung in der Mitte des Körperchens, wie sie schon bekannt war (Taf. II, Fig. 3*a*, 4*a*, 5*a*). Um diese kernartige Masse bleibt manchmal der Innenraum durchaus leer lichtbrechend mit den oberflächlichen beschriebenen Andeutungen einer nicht ganz homogenen Zusammensetzung (Zeichnung). Bei einer gewissen Zahl von Kurloff-Körpern finden wir sogar zwei oder auch drei solcher kugeligen Kerne in direkten Durchschnürungsfiguren (Taf. II, Fig. 5*a*). Weiter finden wir stäbchenartige, kranzförmig um eine mittlere ganz helle Zone angeordnete

Figuren (Zeichnung 2), die denen durchaus ähnlich sehen, welche ich als Pseudokerne abbildete am fixierten Materiale (1. Mitt. Fig. 18) oder kugelige und durch die ganze Grundsubstanz verteilte Trümmer, die bekannten Figuren früherer Autoren (s. Zeichnung 3). Bei intensivster Einwirkung ist eine ganz oberflächliche Ansammlung von formlosen Partikelchen zu sehen (Zeichnung 4).

Bei anderen Stadien finden wir wieder den hellen Vakuolenraum um den kompakten Kern mit etwas später auftauchendem kurzen einfachen Stäbchen oder Flecken in leidlich regelmäßiger Verteilung besetzt (siehe Fig. 8*b*. Umfärbung einer derartigen Neutralrotfigur).

Was bedeuten diese kaum mit den oberen vereinbaren Bilder?

Meine erste Ansicht war, daß es sich bei den Pseudokernen um einfache Verklumpungen der gesamten vital überhaupt färbbaren Masse handeln müßte. Die augenblickliche, nur wenige Sekunden dauernde Färbung bewog mich in erster Linie dazu; ich stellte mir eine sehr rapid und völlig verflüssigende Schädigung vor, die alle färbbare Substanz in der Mitte zusammentreibt. Dafür sprachen auch Bilder bei ganz kurzer und durch Fixierung unterbrochener Neutralrotwirkung (Fig. 8*a*). Hier war die Neutralrotlösung wie sonst Azur II auf dem Objektträger eingetrocknet, das Blut darauf ausgestrichen und noch feucht in Osmiumdampf fixiert. Es sieht hier in der Tat so aus, als ob Korrosionen einer homogen verteilten Masse stattgefunden hätten.

Dagegen sprachen jedoch die beobachteten teilungsartigen Erscheinungen (Fig. 5*a*), die übrigens den von Hückel sehr genau studierten Pseudoteilungen von ganzen Guarnieri-Körpern verblüffend ähnlich sehen können. Weiter die Zertrümmerungs- oder Auflösungsbilder (Textzeichnung 2—4) unter anscheinend ganz gleichen Färbungsbedingungen. Endlich sahen die sonst noch verteilten Stäbchen oft so regelmäßig angeordnet aus, daß eine besondere, speziell mit Neutralrot färbbare Masse nicht ausgeschlossen erschien.

Ich machte Versuche, die nunmehr gelungen sind: durch Zusatz von Azur-II-Lösung (wässerig) vom Rande her in kleinen Mengen, die die Neutralrotlösung langsam verdrängten, gelang es die Azur-II-Figuren **außerdem** zu erhalten. Ich stellte ein mit Neutralrot vorgefärbtes „kernhaltiges" Kurloff-Körperchen mit freier Vakuole im Mikroskop direkt ein, setzte Azur II zu und beobachtete nun genau in der bekannten Weise das Auftreten der erst lichtbrechenden Stäbchen oder Fäden um den anfangs unveränderten Pseudokern (Fig. 3*a*—5*b*). Wenn die rosa Farbe sich bemerklich machte, wurde auch der Pseudokern grünlichbraun (Fig. 4*b*), nach vollendeter Ausfärbung war er fast so dunkel, aber schmutzigviolett, wie die Azurfiguren (Fig. 3*b*, 4*c*, 5*b*).

Somit war bestätigt, was ich Pappenheim-Flu und Flu gegenüber hervorheben muß, daß die mit Neutralrot darstellbaren, plumperen Strukturen mit meinen Azurfärbungen nicht ohne weiteres identisch sind, wie ich es auch in der ersten Mitteilung angab.

Auch die Kurloff-Körper mit geteilten und zertrümmertem Innenkörpern oder Pseudokern zeigten die gleiche Erscheinung (Fig. 5*a*, 5*b*).

Bei den stäbchenartigen Fleckungen in der Umgebung der Innenkörper (Fig. 4*c*) gelang es nicht so klar, zu erkennen, ob nicht diese Gebilde unvollkommene Färbungen der Azurstruktur vorstellten, da sie ja später auch die Azurfärbung annehmen. Einmal erhielt ich um den kranzförmigen aufgelockerten Pseudokern herum sehr schöne Fadenknäuel, so daß am Schlusse der Färbung zu unterscheiden waren:

Lichtbrechende Grundsubstanz, heller Raum im inneren Kranz grober Stäbchen (Neutralrotfigur Zeichnung 2), feine Fäden in der Grundsubstanz in einem größeren, nahe der der Oberfläche liegendem Kranze oder Knäuel (Azurfigur).

Das Exemplum crucis wollte nicht glingen: ich versuchte, azurgefärbte Kurloff-Körper nachträglich mit dem Neutralrotkern zu versehen. Es trat, was auch immerhin sehr interessant war, eine völlige goldbraune Umfärbung der Azurfiguren ein, aber es gelang mir bisher noch nicht, einen Pseudokern zu erzielen, vielleicht weil die Farbstoffe in den verwendeten Mischungen zu sehr störten, oder weil während der langsamen Azur-II-Färbung der durch Neutralrot sonst momentan dargestellte Pseudokern bereits gelöst ist; Reste von ihm könnten die durch Neutralrotzusatz hervortretenden oberflächlichen Körnungen sein, die das saubere Azurbild verschleiern.

Nachträglicher Zusatz von Azur II färbte die Figuren wieder blauviolettt und schließlich azurrot. Man konnte das Spiel mit einiger Vorsicht mehrfach wiederholen.

Ich stellte dann in einem anderen Präparat ein besonders schönes großes Kurloff-Körperchen ein, das eine klare Azurfigur aus schönen Trommelschlegelstäbchen bot. Dann wurde das azurhaltige Serum durch Neutralrot in Kochsalzlösung ersetzt und fortwährend beobachtet. Zuerst trat die beschriebene Umfärbung ein in braun, wobei sich die Stäbchen nicht änderten; erst als das Serum gänzlich durch die hellgelbliche Neutrallösung ersetzt war, wurden plötzlich die Stäbchen sichtlich plump, dann schmolzen sie direkt von den Enden her zusammen und wurden kugelig; der letzte Anblick, der konstant blieb, war der eines mit einer Anzahl großer klumpiger Kugeln erfüllten Kurloff-Körpers, wie ihn zu intensive Färbungen meist bieten (etwa Textzeichnung 3). Die Reihenfolge der Bilder entsprach etwa den fixierten Körperchen Taf. I, Fig. 2*b*; 1*a*; 1*d*. Aehnliche Wirkungen intensiver Vitalfärbungen berichtet jetzt auch Flu. (Es sei gleich bemerkt, daß meine Versuche vor Erscheinen von Flus Arbeit bis auf die Kombination von Azur- und Neutralrot bereits durch die Zeichnerin gemalt waren.)

Nunmehr kombinierte ich die unter 2. geschilderten Quellungsversuche mit den Azurfärbungen.

Sobald die Quellung begonnen hatte, setzte ich vom Rande aus Azur zu. Der beschriebene Innenkontur der gequollenen Vakuole, die dem alten Umfange des Kurloff-Körpers etwa entsprach, färbte sich sehr bald und erwies sich als skelettartiges Gerüst, das ganz aus den Azurstrukturen und irgend einem nur als Kittsubstanz zu vermutenden Bindemittel besteht (Fig. 2*a*—2*c*). (Auch Ledingham und Flu erwähnt netzartige Struktur bei Vitalfärbung.) Oft waren es direkt korbartige zierlichste Gerüste, die in der jetzt auf mehr als das Doppelte vergrößerten Vakuole in der Größe des alten Kurloff-Körpers bestehen blieben (Fig. 2*a*, 2*c*) oder auch selbst mitvergrößert wurden (Fig. 2*d*). War die Quellung zu schnell erfolgt, so waren die zusammensetzenden Stäbchen manchmal auseinandergerissen (Fig. 2*e*, *f*) und in den übertretenden Teil der Gesamtvakuole hinausgerissen, resp. beim Platzen hinausgeschleudert (Fig. 2*g*, 2*h*). Bei diesen Vorgängen zeigten sich oft sehr lebhafte molekulare Bewegungen, die bei den einfachen Färbungen stets vermißt werden.

Die schon wiederholt erwähnten, in der eigentlichen quellenden Grundsubstanz noch verteilten, sehr feinen vital nicht metachromatisch färbbaren Körnchen treten in dieser Methodik durch ganz matte Lilafarbe bei geeigneter Alkalinität der Färbung besser hervor (Fig. 2*e*—2*h*). Es ist das, worauf ich schon in der ersten Mitteilung hinwies, eine Analogie mit den ebenfalls vital nicht anders färbbaren Elementarkörnchen (nach v. Prowazek).

Derartige Präparationen lassen sich gut aufbewahren. Am einfachsten ist es, das Deckglas vorsichtig, ohne seitlich zu verschieben, mit einer Nadel durch einen Ruck zu lüften und einfach trocknen zu lassen (Fig. 2*a*—*i*). Die Stäbchen bleiben in ihrem etwas gequollenen Zustande je nach dem Grade der Zerstörung außerhalb oder innerhalb der sehr vergrößerten und zerflossenen Grundsubstanz liegen, während die feinen Körnchen manchmal ganz außerordentlich scharf blaßblau oder rosa heraustreten (Fig. 2*e*—*h*). Man kann an ihnen teilungsartige Doppelfiguren beobachten und eventuell auch längere Reihen oder Ketten (Fig. 2*h* u. 2*i*). Ob diese feinen Fäden, die in Körnchen sich aufzulösen scheinen, irgendwie mit den großen Azur-Stäben zusammenhingen, ist noch nicht zu entscheiden. Es gab Bilder, wo die Stäbchen wie Typhusbacillen mit Geißelfärbung erschienen, d. h. wo die feinen, in Körnchen zerfallenden Fäden direkt von den Stäbchen auszugehen schienen! (Fig. 2*i*.)

Bei fortgeschrittenerer Zerstörung findet man dann alle Grade des Ueberganges der Stäbchen etc. in die formlosen Klumpen schlechter Vitalfärbungen (Fig. 2*f*, 2*g*, 2*h*); es können auch nur exzentrisch amorphe Massen oder selbst gar nichts Metachromatisches mehr sichtbar sein (fixiert Fig. 1*d*—1*f*).

Vielleicht wird den histologisch geschulten Leser diese Art der Präparation etwas befremden. Ich möchte daher darauf aufmerksam machen, daß bei vitaler Färbung oder erweitert überhaupt bei Färbung von unfixiertem Material eine Art Fixierung der dargestellten Strukturen eintritt. Man kann sich sehr leicht davon überzeugen, daß z. B. einfache Trockenausstriche von Knochenmark durch Färbung mit Azurlösung (wässerig) unter Deckglas eine Darstellung der Kernstruktur aufweisen können, wie man sie nur an sehr gut fixiertem Materiale sonst sieht. Nach der Färbung kann man diese Präparate sogar spülen, nachfixieren oder umfärben, ohne daß die gefärbten Details verloren gehen. Sie sind vorzügliche Beweise der Realität der Kernstrukturen vor Anwendung von Fixierungsmitteln gegenüber zu weitgehenden kolloidchemischen Anzweiflungen.

Die gute Erhaltung der vital einmal dargestellten Strukturen in den weiteren Präparationen ist ein analoger Vorgang. Es ist somit nichts Besonderes, wenn Ross die **gefärbten** Strukturen später im Ausstrich wiederfindet. Man darf daraus, daß es ohne Vitalfärbungen nicht recht gelingt, diese Strukturen so exakt zu erhalten, keineswegs auf ihre Entstehung erst durch die Färbung schließen; sie könnten nur durch sie erst widerstandsfähig geworden sein! Die starken inneren Veränderungen, die eine Subtsanz durch Färbung erleidet, markieren sich besonders gut im Dunkelfeld, wenn man die plötzliche Lichbrechungsänderung gefärbter Kerne oder der Kurloff-Körperstrukturen beachtet; man sieht direkt, wie sie aus einem flüssigen, labilen in einen gefällten starren Zustand übergehen.

Durch Anwendung der Osmium-Dampffixierung wird auch die Grundsubstanz samt allen vitalfärbbaren Details erhalten. Solche Bilder sind sehr lehrreich, da sie in Methylalkohol nachgehärtet und mit Giemsa gefärbt, alle möglichen Bilder von bester Erhaltung bis weitgehendster Zerstörung nebeneinander aufweisen (s. Fig. 1*a—f*). Besonders die sehr geringe Resistenz der Azurformen gegen Auflösung, die ganz im Gegensatz zu Parasiten steht (Malaria, Trypanosomen, Spirochäten!), zeigt sich nur zu deutlich in der völligen Verklumpung (Fig. 1*d*—1*f*).

Fassen wir schließlich zusammen, was aus diesen zahlreichen und nicht ganz einfachen Versuchen hervorgeht:

In der Tat scheint die Homogenität der Kurloff-Körper nur eine durch die konsistente, lichtbrechende, quellbare und wasserlösliche Grundsubstanz vorgetäuschte.

Der Verlauf des Färbungsprozesses zeigt, daß die mit Azur II allein darstellbaren vitalen Azurstrukturen trotz ihrer seltsamen Formen wohl die der natürlichen, flüssigen, bisher am nächsten stehende Form sein dürften. Es lassen sich die durch andere Vitalmethoden erzielbaren unregelmäßigen Fleckungen teilweise bei direkter Beobachtung aus den Azurstrukturen durch Schädigung entwickeln.

Außer der Azurstruktur ließ sich in manchen Kurloff-Körpern eine mit Neutralrot allein darstellbare Pseudo-Kernfigur erhalten resp. Zertrümmerungsfiguren von ihr.

Die Azurstrukturen waren nachträglich um sie herum darstellbar, nicht aber umgekehrt bisher der Pseudokern nach Darstellung der Azurfigur.

Die Strukturen sind vom ersten Augenblick des Sichtbarwerdens durch Aenderung der Lichtbrechung bis zur vollen Ausfärbung unverändert, gleich gruppiert und niemals beweglich, ehe nicht osmotische Prozesse eine Bewegung vortäuschen.

Die einmal dargestellten Azurstrukturen sind fixierbar, wiederholt umfärbbar.

Die Azurstruktur entspricht bei Quellungsfiguren dem Umfange des ungequollenen Kurloff-Körpers, und bildet ein durch eine nicht azurfärbbare Kittsubstanz zusammengehaltene korbartige Figur (Azurfigur), die allerdings äußerst labil, löslich und zerfließlich ist.

Die feinen intermediären Körnchen waren gerade nach fast völliger Auflösung der Grundsubstanz scharf und isoliert darstellbar (Fig. 2*e*—2*i*). Ihr Zusammenhang mit den anderen Strukturen war noch nicht sicher erkennbar.

Die Grundsubstanz scheint an sich nicht azurophil zu sein, es aber durch Auflösung der Azursubstanz zu werden (Fig. 1*a—f*; 6*a*). Bilder wie Fig. 10*a* u. *b* müßten allerdings dann durch partielle Auflösung der Azurstruktur erklärt werden.

4. Die Identifizierung der dargestellten Strukturen untereinander und mit Parasiten.

Wir haben unterschieden:

a) eine Grundsubstanz (Fig. 1*a*—1*c*, gelb),
b) eine Azurfigur (Fig. 2*a*—2*d*),
c) einen Pseudokern mit Neutralrot (Fig, 3*a*, 4*a*, 5*a*),
d) intermediäre vital nur sehr schwach anfärbbare Körnchen (Fig. 2*e*—2*h*).

Diese Bestandteile entsprechen den in meiner ersten Mitteilung gegebenen Details, obwohl damals ihre Darstellung mehr auf Kombination der verschiedensten Methoden beruhte: der Grundsubstanz oder gallertigem Vakuoleninhalt, den initialkörperartigen Stäbchen etc. dem Innen- oder Restkörper, den elementarkornartigen feinsten Körnchen.

Ich glaubte am fixierten Materiale nur die pseudokernartigen Figuren in meiner ersten Mitteilung (siehe Fig. 17, 18 und 19 dort) erhalten zu haben, die gröberen Azurstrukturen als helle Lücken im fixierten Körperchen eventuell wiederzuerkennen und höchstens noch die feinsten Körnchen eventuell im Ausstrich-Giemsa-Präparat mit den feinsten Körnchen vergleichen zu können (Taf. II, Fig. 6*a* u. 6*b*).

Flu geht darin weiter:

Flu faßt alle mit seiner neuen Methode am fixierten Materiale dargestellten Strukturen als fortlaufende Reihe zusammen. Aus dem Innenkörper gehen erst gröbere, dann fortgesetzt kleinere Gebilde durch Teilung hervor, und schließlich ist der ganze Kurloff-Körper erfüllt von den kleinsten Körnchen (etwa Fig. 1*a*—*c*).

Wie Flu sich aber die Einordnung der Azurstruktur denkt, die ihm genau so mit meiner Methode gelungen ist, darüber sagt Flu nichts. Ich bin der Meinung, daß vielleicht der Restkörper mit dem Neutralrotkörper (Pseudokern) identisch ist, sicher aber mit den von mir schon am fixierten Materiale erwähnten Pseudokernen (Dominici-Färbung) oder dem „Innenkörper" bei Osmiumfixierung und Giemsa-Färbung (1. Mitteilung, Fig. 19). Ich bin weiter auch nicht abgeneigt, eventuell die feinsten rosa Körnchen Flus mit meinen feinsten intermediären Körnchen zu identifizieren (s. bes. Fig. 1*c*), daß aber die in Fig. 39 bei Flu abgebildeten hellen Lücken eher mit den von mir in meiner ersten Mitteilung erwähnten Lücken identisch sind und den groben Azurstrukturen entsprechen, ist mir sehr wahrscheinlich.

(Die in Fig. 24—31 (bei Flu) dargestellte braune Zwischensubstanz zwischen den Körnchen, die in Fig. 26 zu einem Ringe von kleineren Ringen angeordnet ist, ist das einzige, was man mit den Azursubstanzen gefärbt vielleicht identifizieren könnte, wenn sie am sofort fixierten Materiale überhaupt noch darstellbar sind.)

Flu hat sich die Identifizierung erlassen, da er meine Befunde überhaupt nicht detailliert berücksichtigt. Vergleichen wir seine Abbildungen mit den Osmiumfixierungen der in Zerstörung befindlichen Kurloff-Körper (Fig. 1*a*—*f*), so scheint mir daraus hervorzugehen, daß die am fixierten Materiale überhaupt zu erhaltenden Bilder erst den Zerstörungsbildern bei kombinierten Methoden entsprechen und auf einer völligen Auflösung der Vitalstrukturen, einer flüs-

sigen Zerstreuung durch das ganze Körperchen beruhen. Dafür spricht die totale Azurfärbbarkeit, die nach meinen Befunden auch für Sublimatalkohol-Präparate besteht (Fig. 7*a*–7*c*), während bei Osmiumfixation nach Vitalfärbung mit dargestellter Azurfigur die Grundsubstanz gelblich auch bei intensiver Giemsa-Färbung bleibt (Fig. 1*a* u. 1*b*). Es ist allerdings ein wesentlicher Fortschritt Flus, überhaupt in die fixierten Gebilde mit differenzierenden Färbungen so weit eingedrungen zu sein. Ob es aber ein Fortschritt ist, hinsichtlich der Chlamydozoentheorie so vital und fixiert ganz verschieden darstellbare Gebilde in einen direkten genetischen Zusammenhang gebracht zu haben, kann erst die Zukunft lehren. Ich sah mich wenigstens bewogen, gerade diese Strukturen also, die sich, wie Flu selbst anführt, färberisch nicht mit der Chlamydozoentheorie bei anderen Methoden decken, als Zellbestandteile den eventuell als Erreger aufzufassenden Körnchen gegenüberzustellen. Letztere verhalten sich in der Tat ganz analog den Elementarkörnchen in allen angewandten Methoden; besonders ist der eigentümliche rosaviolette Ton der Körnchen bei Giemsa-Färbung hervorzuheben (Fig. 2*e*—2*h*; 6*b*; 9), der auch bei „Chlamydozoen" zu beobachten ist.

Es würde sich daraus also der Gegensatz ergeben, daß Flu doch weitere Teile, ja sogar die Grundsubstanz als Parasitenteil betrachtet, während ich möglichst viel auf die Zelle als solche zurückführte, an dieser Anschauung möchte ich nach weiteren Untersuchungen festhalten, bis die ganze Frage geklärt ist.

Die Identität der vitalen Azurfigur mit den in Alkoholfixationen darstellbaren Strukturen, wie sie Ledingham zuerst abbildete, ist, wie ich Flu-Pappenheim bestätigte (s. Entgegnung p. 218), nicht ganz zu bezweifeln. Man erhält diese Präparate, wenn die Kurloff-Körper nicht ganz getrocknet sind oder der Alkohol wasserhaltig ist, durch teilweise Auflösung der Grundsubstanz; es sind also teilweise Mazerationen; für Alkoholfixation sind es Kunstprodukte (Pappenheim, Flu-Pappenheim, Flu). Die Auflösung gröberer Azurstrukturen ist als Fleckung oft sehr deutlich (Fig. 6*a*), während nach weiterer Auflösung nur die feinen Körnchen negativ oder positiv sichtbar bleiben (Fig. 6*b*), die ich entgegen Pappenheim nicht für Fällungen durch Alkohol halten konnte, weil ich sie schon 1909 an unfixiertem Materiale sah.

Die Azurstrukturen, die mit den Rossschen intrakorpuskulären Lymphocytozoen absolut identisch sind, einfach als Parasiten aufzufassen, will mir nicht annehmbar erscheinen. Derartige vitale Färbbarkeit, Zerfließlichkeit, Polymorphie kennen wir bisher allein bei Reaktionsstrukturen von Zellen und Protozoen, als Vorstufen bei der Ausarbeitung spezieller Bestandteile wie Chromidien, Chondriokonten, Sekreten, Pigmenten etc., nicht aber bei ganzen lebenden Organismen. Diesen Beweis muß uns Ross erst liefern, ehe wir an den Protozoen nahestehende Spirochäten denken können, es wäre etwas so absolut Neues, daß nach dem bisherigen Stande unserer Kenntnisse die Ansichten von Ross als unvereinbar abgewiesen werden müssen. Sehr spirochätenartig sind die Formen auch nur selten (z. B. Fig. 9).

Ich will nicht noch einmal auf die erst in sehr hypothetischer Form herangezogene Analogie mit Archoplasmastrukturen eingehen; ich könnte darüber auch heute noch nicht mehr sagen als in der damaligen Arbeit (Lit. 2 oben).

Daß man in den Zellen sonst derartige Strukturen nicht beobachtet, darf nicht diese Erklärung von vornherein unmöglich erscheinen lassen! Wer z. B. die Entstehung von Pigmenten in Epithelien verfolgt hat, kann sich dem Eindruck nicht verschließen,

daß hier ganz gleichartige Zellen durch besondere, nur für uns nicht so leicht zu verfolgende Prozesse als Endprodukt gerade Pigment sichtbar bilden, während sonst die gleichen Formteile andere weniger erkennbare und darstellbare Produkte liefern oder unentwickelt bleiben.

Gerade auch die neueren Untersuchungen über die Metazoenzellen und ihre Golgi-Körper (Deineka u. a.) lehren überzeugend, welchen Ueberraschungen wir hier noch begegnen könnten; sämtliche fast in allen Methoden homogene Zellen scheinen in der Tat diese Strukturen neben dem Kern zu besitzen und sie scheinen die erstaunlichste chemische und morphologische Variabilität zu besitzen.

Meirowski machte mich freundlichst nach dem Erscheinen der ersten Mitteilung auf seine Pigmentarbeiten aufmerksam, die allerdings in die Kategorie aller dieser Vorgänge gehören dürften. Da ich aber einen Zusammenhang mit Nukleolen nicht beobachten konnte, noch Uebergänge zu Pigment an Kurloff-Körpern sah, so muß ich mir ein Eingehen darauf vorläufig versagen.

Der Schluß aus allen diesen Untersuchungen ist:

Die Kurloff-Körper als Ganzes sind am wahrscheinlichsten kompliziert gebaute **Zellreaktionsprodukte** von weitgehender Aehnlichkeit mit den Reaktionsprodukten durch Chlamydozoen. Die Mitwirkung von Parasiten bei ihrer Entwickelung ist nach Art ihres Auftretens sehr wohl möglich, doch noch durch keinen morphologischen Befund überzeugend bewiesen und eventuell auch durch Einwirkung flüssiger Reizmittel (Toxine etc.) zu ersetzen. Die einzelnen Strukturelemente sind bis auf die weiter morphologisch nicht zu untersuchenden, ganz feinen intermediären Körnchen nach unseren bisherigen Kenntnissen **keine** Organismen, sondern vom morphologischen Charakter der den Lipoiden nahestehenden speziellen Protoplasma- oder Archoplasma-Strukturen, die, wie sie, höchste Labilität, komplizierte Zusammensetzung, scheinbar teilungsartiges Wachstum und zyklische Entwickelungen aufweisen können. Die Erscheinungsform ist stets in ungewöhnlich hohem Grade von der jeweiligen Methode abhängig, und die naturwahre Struktur bleibt weiter Gegenstand der Untersuchung. Gerade bei Heranziehung der Chlamydozoentheorie sind erst haltbare Beweise zu erbringen, daß die beobachteten gröberen Strukturen nicht den Substanzen zugehören, die als Reaktion von der Zelle erzeugt werden können und die die Hauptmasse des Einschlusses bilden.

Sollten aber die vorstehend weiter morphologisch detaillierten Strukturen dennoch durch neue (!!) Befunde als selbst parasitisch erwiesen werden können, so würden sie sich von allen bisher bekannten protozoischen und bakteriellen Entwickelungen völlig unterscheiden.

Zusatz.

Seit Niederschrift dieser Untersuchungen habe ich die Schriften[1]) und die Methoden von H. C. und E. H. Ross zahlreichen Nachprüfungen unterworfen, teilweise auch an menschlichem Luesmateriale, das mir Herr Oberarzt Dr. Arning durch seine Schüler, Herrn Bothwell und Herrn Reschad, in liebenswürdigster Weise zugänglich machte. Die Zweifel, die ich bei meiner technischen Mitteilung (Lit. oben No. 9) gegen die Deutungen von E. H. Ross äußerte, haben sich nur verstärkt.

1) Induced Cell-reproduction and Cancer. (Further Research. Vol. 1—3. London 1911—1913.)

Zuerst muß ich betonen, daß von einer Aehnlichkeit zwischen „Kurloff-Körpern“ und den Einschlüssen bei Syphilis kaum irgendwie die Rede sein kann. Alles, was wir gemeinsam als „Rosssche Einschlüsse“ finden konnten, zeigte weder strukturelle Aehnlichkeit, noch absolute tinktorielle Identität, **noch irgendwie parasitäres Aussehen** im bekannten Sinne. Herr Bothwell kannte Ross' Präparate persönlich; Zeichnungen unserer Befunde sind brieflich von Ross als identisch anerkannt. Weitere Untersuchungen über die behauptete Spezifität der Einschlüsse für Lues sind im Gange.

Die umfangreichen Schriften von H. C. und E. H. Ross, sowie von ihren Mitarbeitern enthalten eine Fülle neuer Erklärungen von Vorgängen, die man eher für Zelldegenerationen aller Art halten würde. Sie sollen aber Teilungen an Leukocyten, Lymphocyten, kernlosen Erythrocyten (sogar mehrfache Teilung), Blutplättchen etc. sein, hervorgerufen durch Einwirkung von Zellteilung-fördernden Substanzen. Selbst so wichtige Behauptungen, daß „Altmannsche Granula“ Chromosomen bei mitotischer Protoplasmateilung (!!) der weißen Blutzellen bilden, werden ohne Literatur und ohne andere Beweise als die Schilderung sehr leicht ganz anders deutbarer Vitalfärbungen eingeführt. Ich habe alle auf Biutbefunde bezüglichen Angaben mit der vorgeschriebenen Methodik nachgeprüft, auch manche der Bilder erhalten, habe aber nie etwas gesehen, das ich ebenso wie die Autoren für echte Zellteilung halten würde; d. h. als beschleunigte vitale und mitotische Teilung weißer Blutzellen ansehen könnte.

Die Ansichten von H. C. und E. H. Ross sind gestützt durch die Autorität eines Sir Ronald Ross; sie sind teilweise mit lebhafter Empfehlung für die Diagnostik in der Praxis veröffentlicht (Brit. med. Journ. 1912). Allein aus diesen Gründen halte ich es für angebracht, ohne auf Einzelheiten eingehen zu können, das völlig Negative unserer langen und mühsamen Nachprüfungen vor allem für die Deutung der Zelleinschlüsse als Entwickelungsstadien von spirochätoiden „Lymphocytozoen“ bei Lues und anderen Spirochätosen kurz anzugeben. Vielleicht könnten die in der Tat auffindbaren vielgestaltigen Einschlüsse die Bedeutung etwa der Dohleschen Einschlüsse haben und vage klinische Symptome anscheinend ohne ätiologische Bedeutung sein[1]).

Die Agarmethodik an sich, früher schon angewendet von Deetjen und Weidenreich, und in origineller Weise durch H. C. Ross auf Rat von Sir Ronald Ross durch den Farbzusatz bereichert, kann als anschauliche Vitalfärbemethode für flüssiges Zellmaterial teilweise empfohlen werden. Sie gewährt durch die schöne Ausbreitung der Zellen des Blutes z. B. oft überraschend deutliche Bilder und sehr gleichmäßige Färbungen, läßt sich auch durch die mögliche Variation der Zusätze in sehr glücklicher Weise leicht modifizieren, so daß sie für Sonderzwecke zum feineren Studium überlebender Zellen recht anwendbar erscheint. Wirklich neue Resultate gegenüber den bekannten Vitalfärbungen habe ich für Blut nicht erhalten können; für die Kurloff-Körper gaben die angegebenen Konzentrationen durchaus schlechtere Resultate als die oben beschriebenen Methoden.

1) Herr Reschad fand die Einschlüsse sehr entwickelt bei einer typischen akuten Leukämie; ich selbst fand sie bei verschiedenen Tieren in entzündlichem Materiale mit und ohne parasitäre Ursache.

Figurenerklärung.

Fig. 1*a—l.* Kurloff-Körper des peripheren Blutes in verschiedenen Stadien der Zerstörung, vital mit Azur II stark angefärbt und nach Abheben des Deckglases mit Osmiumdampf fixiert; Giemsa-Nachfärbung.

Fig. 1*a* u. *b*. Mit erhaltener Grundsubstanz, aber zunehmender Zerstörung der Azurfigur.

Fig. 1*c*. Die feinverteilte Azursubstanz läßt die feinen ungefärbten Körnchen negativ erkennen.

Fig. 1*d—f*. Zerfließlichkeit und Neigung zur Verklumpung bei der Azursubstanz; Grundsubstanz zerstört.

Fig. 2*a—f*. Kurloff-Körper des peripheren Blutes, durch NaCl-Lösung zum Quellen gebracht, in verschiedenen Stadien der Erhaltung durch nachträglichen Azur II-Zusatz vital gefärbt. Nach Abheben des Deckglases einfach getrocknet.

Fig. 2*a—c*. Dem alten Umfange des Körperchens entsprechende, verschiedenartige Azurfigur.

Fig. 2*d*. Allgemein vergrößertes Fadenstadium.

Fig. 2*e—h*. Zerplatzende Körperchen mit Verteilung, Austritt oder Verklumpung der Azurstruktur. In der fast gelösten Grundsubstanz sind die feinsten Körnchen scharf einfach, doppelt oder in Reihen erkennbar.

Fig. 2*i*. Grobe Azurstruktur und scheinbar davon ausgehende Fäden, die vielleicht Vorstufen der feinsten Körnchen sind.

Fig. 3—5. Kombinierte Neutralrot- und Azur II-Vitalfärbung. Das erste Bild zeigt immer das gleiche Körperchen bei Zusatz von Neutralrot-NaCl 0,9, das folgende die nachträglich durch Azur II hinzugekommene Azurstruktur.

Fig. 4*b* ein Uebergang. Fig. 5 teilungsartiger Pseudokern.

Fig. 6*a—b*. Methylalkoholfixation; Giemsa-Färbung. Die feinen Körnchen treten in der schlecht erhaltenen Grundsubstanz negativ und positiv hervor.

Fig. 7*a—c*. Jüngere Kurloff-Körper aus der Milz. Feuchte Sublimat-Alkoholfixierung (warm). Jod-Natrium-Thiosulfat-Behandlung. Giemsa-Färbung. Paranukleäre Lage; schönste Azurophilie! Homogen.

Fig. 8*a—b*. Kombination von Neutralrot-Vitalfärbung mit Osmium-Dampffixierung und Giemsa-Aceton-Nachfärbung.

Fig. 8*a*. Ganz kurze Einwirkung des Neutralrotes (Ausstrich!).

Fig. 8*b*. Richtige Vitalmethode. Pseudokern und regelmäßige gröbere Partikel.

Fig. 9. Milzmaterial. Azur II-Vitalvorfärbung; Nachfärbung des getrockneten Materiales mit Giemsa-Aceton kurz (vor Erreichung der typischen Kernfärbung). Spirochätoide Form.

Fig. 10*a—b*. Ausstrich (Blut) auf Azur II-Objektträger; feuchte Kammer; Osmiumdampf kurz; Giemsa-Nachfärbung.

Hantelstäbchen in gut erhaltener azurophiler Grundsubstanz.

Nachdruck verboten.

Nochmals die „Durchbohrung des Duodenums und des Pankreas durch eine Tänie".

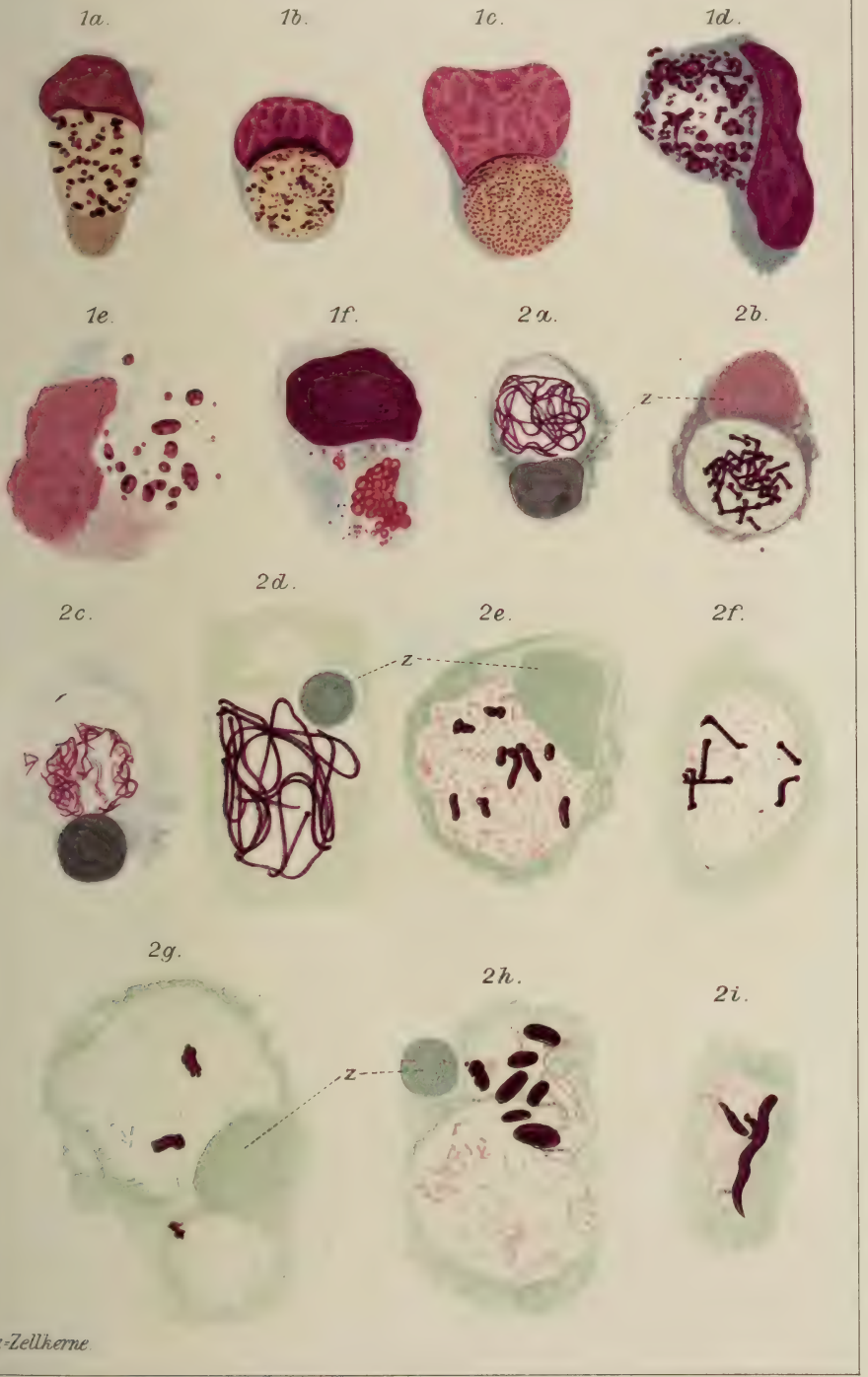
[Aus dem pathologisch-hygienischen Institut der Stadt Chemnitz.]

Von Prof. **C. Nauwerck.**

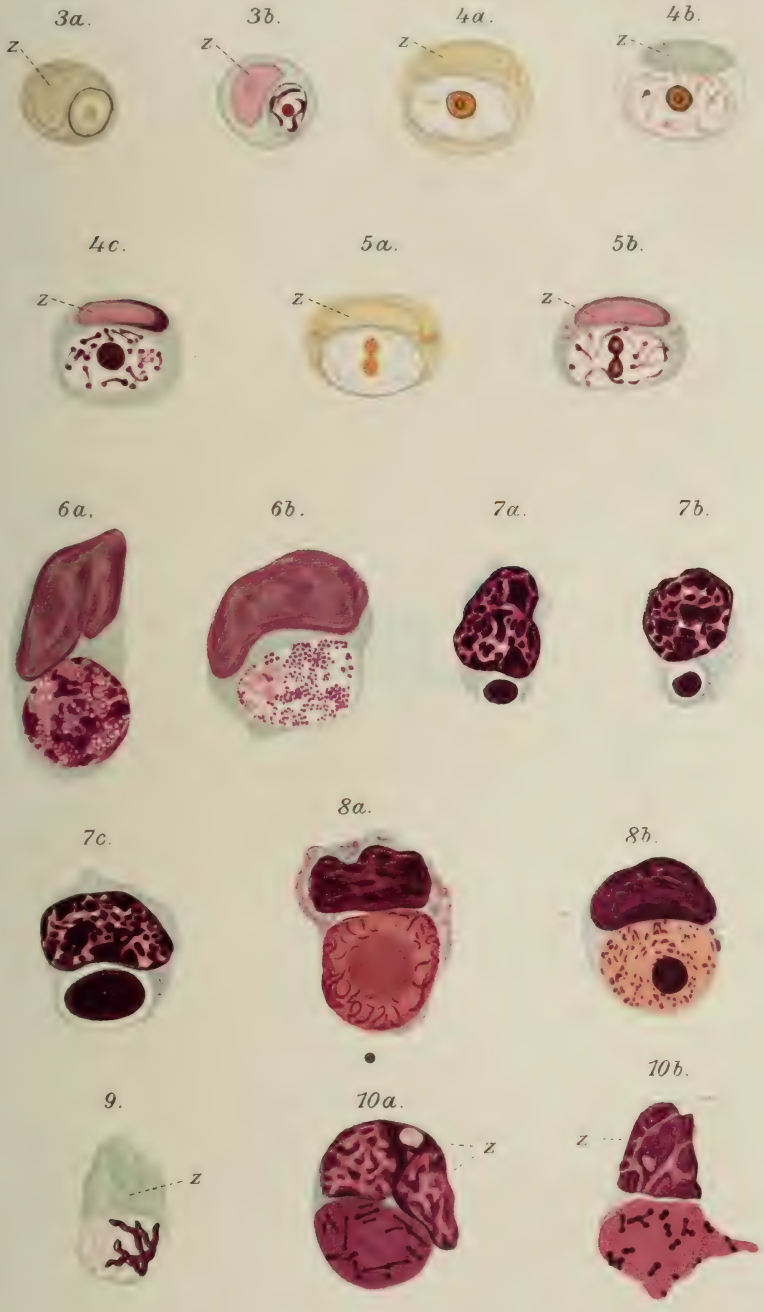
Mit 2 Tafeln.

Die von Alex. Stieda in meinem Institut gemachte, durch die Ueberschrift gekennzeichnete und an dieser Stelle (Bd. 28. 1900) veröffentlichte Beobachtung steht noch heute in der Pathologie des Menschen meines Wissens ohne Seitenstück da; um so mehr verdient sie es, vor unberechtigter Anzweiflung und Mißdeutung dauernd geschützt zu werden.

Ich habe im gleichen Jahre vor Fachgenossen (Verhandl. d.


1a.
1b.
1c.
1d.
1e.
1f.
2a.
2b.
z
2d.
2c.
2e.
2f.
z
2g.
2h.
2i.
z
z-Zellkerne.

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS



z = Zellkerne.

UNIVERSITY OF ILLINOIS

Deutsch. Pathol. Gesellsch. III. p. 81) über den Gegenstand berichtet[1]) und unsere mikroskopischen Präparate demonstriert.

Zur Orientierung möchte ich meinen kurzen Selbstbericht hier wiedergeben:

„Die Frage, ob Tänien beim Menschen selbsttätig den Darm zu durchbohren imstande seien, pflegt von Zoologen und Aerzten verneint zu werden. Die immerhin seltenen Fälle, daß Tänien durch Darmfisteln nach außen oder in Hohlorgane des Körpers gelangten, deutet man dahin, daß der Parasit hier einfach pathologisch vorgebildete Wege beschritten habe. Die Schnittpräparate, welche ich mir herumzugeben erlaube, stammen von der Leiche einer 68-jährigen, an Magencarcinom verstorbenen Frau. Eine Taenia mediocanellata, welche, in warmes Wasser verbracht, in lebhafte Bewegungen geriet, hing der Innenwand der Pars descendens duodeni fest an; sie durchsetzte die Schleimhaut, welche eine quere, 4 mm lange, den durchtretenden Wurm fest umschließende, schlitzförmige Oeffnung mit blutig infiltrierten Rändern zeigte, 3 cm oberhalb und etwas links von der Papille. Weiter zog die Tänie unter mehrfachen Windungen und Knäuelbildungen durch den Kopf des Pankreas, erschien als Konvolut an dessen oberer hinterer Seite, wandte sich wieder um, so daß der Skolex endlich im Drüsengewebe des Pankreas gefunden wurde. Die Präparate lassen den geschilderten Weg erkennen, der sich mikroskopisch durch Blutungen und Nekrosen der unmittelbaren Nachbarschaft kennzeichnete und bald den Drüsengängen folgte, bald mitten durch das Parenchym ging. Ductus choledochus und Wirsungianus waren frei. Da der Darm sowohl als das Pankreas keinerlei Veränderungen erkennen ließen, welche dem Parasiten die ungewohnte Bahn vorher freigemacht hätten, bleibt nur die Annahme übrig, daß Tänien unter Umständen nicht bloß die Darmwand, sondern auch derbe parenchymatöse Organe aktiv perforieren können."

Nun finde ich kürzlich beim Blättern im Handbuch der allgemeinen Pathologie von L. Krehl und F. Marchand, an immerhin hervorragender Stelle also, unseren Fall zu meinem Erstaunen in einer Fassung erwähnt (Bd. I. 1908. p. 352), die dem nicht näher unterrichteten Leser ganz unzutreffende Vorstellungen suggerieren muß:

„Das von Stieda und Nauwerck beschriebene Hineingelangen einer Taenia in einen Kanal im Pankreas ist mit größter Wahrscheinlichkeit als ein zufälliges Ereignis (Kunstprodukt) zu erklären."

So kein Geringerer als F. Marchand selbst.

Gleichwohl kann ich diese wenig glimpfliche Zensur nicht ohne Abwehr über mich ergehen lassen; denn sie verkennt unser eigenes Urteilsvermögen ebenso gründlich, wie sie unsere Fertigkeit in der Herstellung von Artefakten überschätzt.

Dem abfälligen Urteil F. Marchands stelle ich nunmehr einige bei schwacher Vergrößerung aufgenommene Mikrophotogramme unserer alten Präparate als Beleg für die Zuverlässigkeit unserer früheren Beschreibung und Auffassung gegenüber.

Das erste Bild zeigt die Einbruchsstelle des Wurmes durch das Duodenum. Nach M. Braun (Die tierischen Parasiten des

1) In der Diskussion sprach Lubarsch von einem Gänsedarm, in dem sich zahlreiche Tänien fanden, die fast überall die ganze Darmwand perforiert hatten; dabei waren makroskopisch äußerst geringfügige Veränderungen vorhanden; Langerhans von einer Taenia (scheinbar saginata), die durch die Papille des Duodenums und den Duct. choled. hindurch weit in den einen Leberlappen hineinragte.

Menschen. 1908. p. 225) wird die Schleimhaut von den muskulösen (bei T. saginata besonders starken) Saugnäpfen knopfartig emporgehoben; hier ist ein weiteres geschehen; hier ist die sonst unveränderte Schleimhaut geborsten, und es liegt nahe, hierfür in erster Linie eben diese Saugwirkung verantwortlich zu machen; vielleicht daß der feste Untergrund des Pankreas physikalisch die Perforation begünstigt hat. Die Ränder des durch den gewaltsam vordringenden Parasiten wohl vergrößerten Risses flattern seitlich ab, soweit sie der Mucosa und Submucosa angehören, während die Muscularis sich ihm schon dichter anlegt; der Wurm biegt im Bindegewebe zwischen oberflächlich gelegenen, auseinandergedrängten Läppchen des Pankreas von der Schnittebene ab.

Auf ihrer direktionslos sich windenden Wanderung im Pankreas erscheint die Tänie in der folgenden Abbildung an zwei Stellen getroffen.

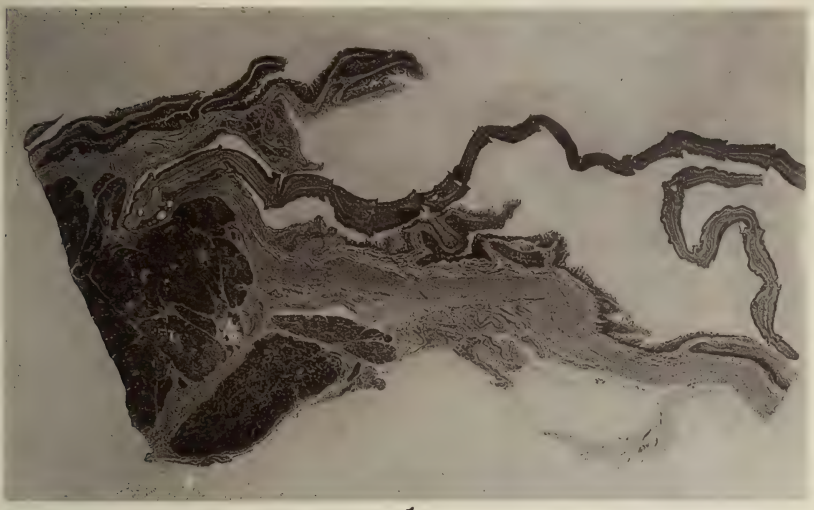
Einen förmlichen Knäuel bildet sie (Fig. 3) im Bindegewebe hinter dem Pankreas.

Der Kopf endlich taucht in dem letzten, etwas stärker vergrößerten Bild mit einem von der Fläche gesehenen und einem mehr seitlich angeschnittenen Saugnapf wieder mitten im Gewebe des Pankreas auf.

Und alles das soll zufällig, soll unser Artefakt sein? —

Zu meiner Genugtuung führt ein Kenner wie M. Braun die Beobachtung Stiedas mit als Beweis an, daß auch bei der Taenia saginata „abnorme Wanderungen“ vorkommen (a. a. O. p. 253 Anm.). Allgemein spricht sich M. Braun dahin aus, daß „stark bewaffnete Arten auch tiefer bis in die Submucosa eindringen; manche, die nicht einmal durch besonders starke Bewaffnung sich auszeichnen, denen eine solche sogar fehlen kann, findet man regelmäßig mit dem Skolex in der Muskulatur der Darmwand, ja über dieselbe außen hervorragend (Taenia tetragona Mol. bei Hühnern u. a.). Abnormerweise bringen andere Arten Durchbohrungen der Darmwand ihrer Wirte zustande“ (p. 226).

Ich habe M. Brauns Ausdruck „Durchbohrungen“ im Druck hervorgehoben, weil W. Danielsen (Allgemeine eiterige Peritonitis durch Bandwurm [Münch. med. Wochenschr. 1913. p. 411]) an dem gleichen Wort bei Stieda, wunderlich genug, Anstoß nimmt. „Soviel ich weiß“, meint W. Danielsen, „kann die Taenia beim Menschen gar nicht bohren, sie hat ja gar keine Freßwerkzeuge“. Seit wann gehören denn Freßwerkzeuge zum Bohren? — Auch Huber in Memmingen, von W. Danielsen helminthologisch konsultiert, „glaubt nicht an diese Fähigkeit des Bandwurms“, macht aber auf die Taenia des Huhnes aufmerksam. Diesen Hinweis — und anderes mehr — hätte W. Danielsen schon bei Stieda finden können.



1

2

J. B. Obernetter, München, reprod.

3

4

J. B. Obernetter, München, reprod.

LIBRARY
OF THE

Nachdruck verboten.

Die Bedeutung der Gasabsorption in der Bakteriologie.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Tübingen.)
(Vorstand: Prof. Dr. Kurt Wolf.)

Von Dr. **Walther Frieber.**

Mit 1 Textfigur.

Angaben über die bei der Spaltung von Kohlehydraten durch Bakterien auftretenden gasförmigen Stoffwechselprodukte finden sich in der bakteriologischen Literatur sehr zahlreich. Betrachtet man sie, soweit sie sich auf Wasserstoff und Kohlendioxyd, namentlich aber auf das gegenseitige Verhältnis beider Gase beziehen, so stellt sich heraus, daß diese Angaben sehr verschieden lauten, sich häufig widersprechen und daß das Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ allein für Bacterium coli, mit dem wir uns hier in erster Linie befassen wollen, z. B. in Glukose ganz außerordentlich großen Schwankungen unterworfen ist. Das ergibt sich aus der folgenden Zusammenstellung:

W. Lembke (1) kam bei der Prüfung von mehr als 20 Coli-Stämmen in 2-proz. Traubenzuckerbouillon zu folgenden Verhältnissen von Wasserstoffgas zu Kohlendioxyd:

	$H_2 : CO_2$
sechsmal	7 : 1
zweimal	6 : 1
viermal	5 : 1
viermal	4 : 1
viermal	2 : 1

Es fanden ferner:

Mendel (2) in 2 Proz. Glukose		2,2 : 1
A. Wolff (3)		2 : 1
Burri und Düggeli (4)	dreimal	3 : 1
	einmal	2,5 : 1
	einmal	2 : 1
	einmal	1,5 : 1
Fuhrmann (5)	$H_2 : CO_2 = 62{,}86 : 30{,}84 =$	2 : 1
Nach Angaben von Escherich-Pfaundler (6) schwankt das Verhältnis	von	3 : 1
	bis	1 : 1
Untersuchungen von K. B. Lehmann und R. O. Neumann (7) ergaben das Verhältnis		3 : 1
Wolffin (8) fand für einen Králstamm	$75{,}6 : 22{,}3 =$	3,4 : 1
und für einen „mit dem Coli durchaus identischen Organismus“	$77{,}5 : 13{,}7 =$	5,5 : 1

W. Holliger (9) untersuchte 6 Coli-Stämme aus Mehlteig. Die Gasanalysen ergaben das Verhältnis

dreimal	2,7 —	2,4 : 1
fünfmat	2,3 —	2,1 : 1
viermal	2,0 —	1,8 : 1
Nach F. Levy (10) war es für 3 Coli-Stämme aus Sauerteig		3,0 : 1
		2,8 : 1
		1,9 : 1
L. und E. Pammel (11) fanden	$75{,}8 : 24{,}18 =$	3,1 : 1
A. C. Thaysen (31)	$8 : 3{,}5 =$	2,3 : 1

Das zahlenmäßig umfangreichste Material findet sich bei Freeland Howe (12). Dieser untersuchte über 380 Stämme, die er aus Wasser isolierte und mit dem Bacterium coli (Escherich) identifizierte, auf die Zusammensetzung des gebildeten Gases. Er fand den CO_2-Gehalt

bei	2	Stämmen	zu	5	Proz.
„	2	„	„	10	„
„	5	„	„	15	„
„	15	„	„	20	„
„	45	„	„	25	„
„	183	„	„	35	„
„	25	„	„	45	„

Der größere Teil dieser Stämme (183) liefert also ein Gasgemisch mit 35 Proz. CO_2. Bei diesen ist also das Verhältnis:

$$H_2 : CO_2 = 2 : 1,$$

wie es auch bei den vorstehenden Angaben anderer Untersucher der Fall ist.

Alle die bisher aufgeführten Ergebnisse haben das gemeinsam, daß sie für Bacterium coli in Glukose das Verhältnis von Wasserstoff zu Kohlendioxyd stets zugunsten des Wasserstoffs finden, welcher stark vorwiegt und etwa das doppelte, ja drei-, vier-, fünf- uud sechsfache, sogar das siebenfache Volumen des Kohlendioxyds darstellt.

Der Umstand, daß die verschiedenen Untersucher so sehr wechselnde Verhältniszahlen für Wasserstoff und Kohlendioxyd fanden, legt die Frage nahe, ob nicht von verschiedenen Rassen der Coli-Gruppe Wasserstoff und Kohlendioxyd in jedem Verhältnisse gebildet werden können?

Ohne Frage sind natürlich diese in den weitesten Grenzen schwankenden Zahlen zum Teil durch individuelle Verschiedenheiten des Bacterium coli bedingt. Die Schwankungen sind aber doch zu groß und lassen daher vermuten, daß diese Verschiedenheiten vielleicht tatsächlich nicht in dem Maße bestehen, sondern auf mangelhafter Methodik beruhen können; denn es ist besonders auffallend, daß gerade die leicht absorbierbare Kohlensäure stets in der Minderheit ist.

Wir dürfen uns daher nicht mehr mit den früher so beliebten Erklärungsworten „Rassenunterschiede“, „Stammeseigentümlichkeiten“, „Standortsvarietäten“ begnügen und uns abhalten lassen, nach dem wirklichen Grunde zu forschen.

Denn alle erwähnten Untersucher, die mit mehreren Stämmen der gleichen Art arbeiteten — Lembke, Levy, Holliger, Howe, Burri-Düggeli — sind uns den Beweis schuldig geblieben, daß es sich nur um Rassenunterschiede handelt und daß Versuchsfehler ausgeschlossen sind. Wären die Versuchsreihen mit jedem Stamm doppelt angestellt worden, dann hätte sich das ergeben müssen. Natürlich wären auch bei den übrigen Untersuchungen Vergleichsangaben sehr wünschenswert gewesen.

Mit diesen Ergebnissen stehen die Angaben von Harden (13) nicht im Einklang. Harden fand bei vier aufeinanderfolgenden Analysen bei einem Versuch das Verhältnis

$$\begin{aligned} H_2 : CO_2 &= 1 : 1{,}26 \\ &= 1 : 1{,}37 \\ &= 1 : 1{,}41 \\ &= 1 : 1{,}47 \end{aligned}$$

Mit Harden übereinstimmend, mit den vorerwähnten zahlreichen anderen Untersuchern im Widerspruch sind die Resultate von Keyes (14). Dieser ließ seine Kulturen im Vakuum wachsen und fand für Bact. coli in Glukose

$$H_2 : CO_2 = 1 : 1{,}3.$$

Mit dem gleichen Stamm nahm er auch Untersuchungen nach Smith vor und erhielt hier das umgekehrte Verhältnis

$$H_2 : CO_2 = 1{,}4 : 1.$$

Diese beiden Befunde sind sehr beachtenswert. Es ist schade, daß Keyes nicht mehrere Coli-Stämme verschiedener Herkunft in der gleichen Weise untersuchte.

Auch Wolffin erhielt für seinen Bacillus levans, einen mit Bacterium coli identischen Organismus, verschiedene Resultate, je nach der benutzten Methode. So hat er bei zahlreichen Versuchen mit dem Smithschen Gärungskölbchen an Kohlendioxyd regelmäßig „etwas mehr als die Hälfte" der gebildeten Gasmenge gefunden, nach der Methode von Dunbar[1]) jedoch

$$H_2 : CO_2 = 25{,}4 : 68{,}9 = 1 : 2{,}7$$
$$28{,}7 : 66{,}8 = 1 : 2{,}3$$
$$31{,}8 : 63{,}7 = 1 : 2$$

Die Unterschiede bei diesen drei aufeinanderfolgenden Analysen erklärt Wolffin damit, daß die Gase in verschiedenen Verhältnissen vom Wasser des Gärkolbens absorbiert werden. Er hat sich auch „überzeugt, daß dieses Variieren der Kohlensäure- und Wasserstoffzahlen noch weiter gehen kann, so daß Werte von 50 Proz. für jedes Gas gefunden werden."(!) Wolffin war sich der Größe und Tragweite dieser Absorptionsfehler bewußt; es geht dies aus der Beigabe einer ausführlichen Tabelle über die Absorptionsgrößen von vier Gasen hervor. Er beachtet sie aber nicht, sagt vielmehr: „beim Auffangen der Gase über Wasser in einem in einer Wasserwanne stehenden Glaszylinder werden CO_2-Verluste nicht zu vermeiden sein." (!)

Es genügt nicht, daß die Analyse der angesammelten Gärungsgase nach dem exakten Verfahren der Gasanalyse ausgeführt wird, es müssen auch noch andere Bedingungen erfüllt sein. Mit Rücksicht auf die zweite zitierte Stelle von Wolffin, sowie um einem Einwand von Conrad (15) zu begegnen, sei ausdrücklich bemerkt, daß es sich in erster Linie nicht darum handelt, ob beim Auffangen der Gase im Eudiometerrohr Wasser oder eine andere Flüssigkeit als Sperrflüssigkeit genommen wird. Die Absorptionsfehler sind bei Verwendung von Wasser, das mit dem betreffenden Gase gesättigt ist, bei technischen Analysen selbstverständlich belanglos, und die hier von Conrad zitierten diesbezüglichen Bemerkungen von Winkler und Hempel treffen völlig zu. Zu wissenschaftlich exakten Bakteriengas-Untersuchungen werden wir aber, wo es nur möglich ist, Quecksilber jeder anderen Sperrflüssigkeit vorziehen.

Die große Fehlerquelle beruht jedoch nicht hierin allein, sie ist vielmehr darin zu suchen, das der im Gärmedium verbleibende Rest absorbierter Gase unberücksichtigt bleibt. Mit Ausnahme der Angaben von Harden (13), Pakes-Jollyman (18), Keyes (14) muß deshalb an der Genauigkeit der erwähnten und noch zu erwähnenden Untersuchungen gezweifelt werden.

Damit fällt auf einen Befund von Conrad sogleich ein anderes Licht. Conrad bestimmte in einer Weißkrautbrühe mit 3 Proz. Glukose-Zusatz die Zusammensetzung der von seinem Bacterium brassicae acidae einmal bei 20° C, sowie bei 35° C freigemachten Gase, und er fand:

bei 20° C	bei 35° C
$H_2 : CO_2$	$H_2 : CO_2$
24,4 : 72,8	13,5 : 85,5
1 : 2,9	1 : 6,3

Es ist also eine ganz beträchtliche Differenz zwischen den beiden Gasgemischen vorhanden. Es muß auffallen, daß der CO_2-Gehalt des Gasgemisches bei 20° gering, dagegen bei der höheren Temperatur von

1) Wolffin zitiert wohl irrtümlicherweise die Methode von Dunbar. Dieser bediente sich gewöhnlicher U-förmig gebogener Röhrchen. Wolffin wird jedoch wohl die Anordnung von Botkin (16) oder Gärtner (17) gemeint haben.

35° bedeutend größer ist und mehr als das Doppelte der bei 20° erhaltenen Kohlensäuremenge beträgt.

Conrad unterließ es leider, die Gesamtmenge des angesammelten Gases, sowie vor allem das Volumen der Gärlösung anzugeben. Aus diesen Daten hätte sich durch rechnerische Kontrolle ergeben, ob die Absorptionsgröße zur Erklärung reicht und wie weit wir mit Conrad den Grund „in einem nach dieser Richtung noch nicht erforschten physiologischen Vorgang der Gärung" zu suchen haben.

Wie alle Untersuchungen der Forscher darlegen, die irgendwie den Versuch, die Absorption zu berücksichtigen, unternommen haben, darf die Tatsache der Löslichkeit der Gase, besonders der verschiedenen Löslichkeit nicht übersehen werden. So zeigen die soeben angeführten Verhältniszahlen Hardens ganz deutlich, daß der CO_2-Gehalt mit allmählicher Sättigung der Nährlösung mit Gasen zunimmt, steigend von $H_2 : CO_2 = 1 : 1{,}2$ bis $1 : 1{,}47$. Er wird nach Berücksichtigung der im Medium verbleibenden Kohlensäure sogar $1 : 1{,}66$.

Wir sehen daraus, daß wir auch bei Wochen dauernden Gärversuchen noch nicht berechtigt sind, das sich alsbald konstant einstellende Verhältnis von $H_2 : CO_2$ als der Wirklichkeit entsprechend anzusehen.

Besonders instruktiv ist auch in dieser Hinsicht ein Versuch von Pakes und Jollyman (27). Sie ließen Bacterium enteritidis Gärtner auf 1 Proz. Natriumformiat enthaltende Pepton-Kochsalz-Bouillon einwirken. Die Analyse der Gärungsgase ergab bei sechs in täglichen Intervallen folgenden Bestimmungen für Kohlendioxyd fast konstant nur $^1/_5$ der Gesamtgasmenge. Erst mit der Ermittlung der im Medium zurückgehaltenen Menge Kohlendioxyd wurde das Gesamtverhältnis von

$$H_2 : CO_2 = 1 : 1$$

erreicht, wie es bei der Spaltung von Ameisensäure der Theorie nach zu erwarten war.

J. Stamm (19) fand für Bacterium coli in drei Parallelversuchen sehr verschiedene Ergebnisse für das Verhältnis von Wasserstoff zu Kohlendioxyd, je nachdem er nach 36, 48 oder 72 Stunden analysierte. Er fand

nach 36^h $34{,}4 : 56{,}9 = 0{,}6 : 1$
„ 48^h $43{,}1 : 49{,}1 = 0{,}9 : 1$
„ 72^h $58{,}8 : 31{,}4 = 1{,}9 : 1$

Stamm erklärt dieses Ansteigen des Wasserstoffs und Fallen des Kohlendioxyds damit, daß er zwei zeitlich nacheinander verlaufende Prozesse annimmt. Demgemäß soll zuerst die Kohlensäure, hernach vornehmlich der Wasserstoff gebildet werden. Eine andere Erklärung liegt aber wohl näher und ist auch wahrscheinlicher. Stamm bediente sich der Methode von Salus (20), die in ähnlicher Weise von vielen Untersuchern verwendet wurde: die Nährlösung füllt einen gewöhnlichen Koch- oder Erlenmeyer-Kolben, verschlossen mit doppelt durchbohrtem Stopfen. Durch eine bis auf den Boden gehende Röhre kann Gärlösung in eine Vorlauffflasche gedrängt werden. Mit dem Zunehmen der Gasmenge wird die von den aufsteigenden Gasblasen zu durchstreichende Flüssigkeitssäule immer kleiner. Auch in der Vorlauffflasche werden Gase gebildet, und zwar in wachsender Menge; diese können aber nicht in den Erlenmeyerkolben gelangen. Im Erlenmeyer selbst wird sich also nur ein kleiner Teil der insgesamt gebildeten Gase vorfinden. Und auch davon noch erleidet das Kohlendioxyd hauptsächlich durch Absorption von der Flüssigkeitsoberfläche aus Verluste, die mit der Zeit wachsen müssen.

Unerwähnt bleiben könnte eine Angabe von Fremlin (21), wenn

diese nicht irrtümlicherweise von Stamm als Bestätigung seiner Resultate zitiert worden wäre. Fremlin arbeitete mit Coli-Stämmen von Mensch, Hund, Maus und Kaninchen und bediente sich der Gärkölbchen von Smith. Gerade darum fällt sein Gasbefund:

$$H_2 : CO_2 = 1 : 2$$

um so mehr auf. Dieses für CO_2 so günstige Ergebnis wird aber dadurch erklärt, daß die Lösung einen Zusatz von 3 Prom. Natriumkarbonat enthielt. Stamm übersah dieses. Fremlins Angaben dürfen daher nicht zum Vergleich herangezogen werden.

Zwei Versuche von Mendel (l. c. Tab. 16a, b) sind besonders zu erwähnen. Bei ihnen kann zur Erklärung der Unterschiede in der Gasmenge der Einwand der durch Stammeseigentümlichkeit bedingten Verschiedenheit nicht geltend gemacht werden. Es wurde mit dem gleichen Stamm von Bacterium cloacae gearbeitet. Es interessiert hier aus den zahlreichen Analysen nur die in 1- und 5-proz. Saccharoselösung produzierte „Gesamtgasmenge". Die in Betracht kommenden Zahlen der Mendelschen Tabellen gebe ich hier wieder, der Uebersicht wegen in einer zusammengestellt:

Tabelle 1.

Zuckergehalt	Vergorener Zucker		Gärdauer	Verbrauch an ccm n/10 Lauge für			„Gesamt"-gasmenge
				Gesamtsäure	nicht-flüchtige Säure	flüchtige Säure	
Proz.	Proz.	g	Tage				ccm
1	91,75	0,917	7	8,62	7,91	0,71	155,9
5	18,12	0,906	8	9,34	8,26	1,08	408,8
						Differenz	252,9

Berechnet man aus dem Prozentgehalt umgesetzten Zuckers seine absolute Menge, bezogen auf ein gleiches Quantum Nährlösung (z. B. 100 ccm) so ist es auffallend, daß bei fast gleicher Menge Gesamt-, flüchtiger und nicht-flüchtiger Säure und bei gleicher Gärdauer nur die Gasmenge erheblich abweicht. Da auf Grund der übrigen übereinstimmenden Daten von der Möglichkeit eines qualitativ verschiedenen Gärverlaufs abzusehen ist, so halte ich die Annahme für berechtigt, daß die alleinige Differenz von 252,9 ccm Gas einesteils durch verschiedene Absorption, andernteils direkt durch Verluste an Gasen durch den Watteverschluß des verwendeten Gärapparats zu erklären ist.

Es sei bemerkt, daß die Mehrzahl der Untersucher, u. a. Lembke, Holliger, Howe, Levy, Pammel, Wolff, Keyes in einem Fall und Smith (22) sich des nach diesem benannten, allgemein gebräuchlichen Smithschen Gärkölbchens bedienten. Dieses ist zur schnellen Orientierung über eintretende Gasbildung wohl geeignet, erweist sich jedoch zur Bestimmung der einzelnen Gase als untauglich. Für exakte Untersuchungen ist es wertlos.

Wegen der allgemeinen Anwendung dieser Smithschen Gärkölbchen sind daher alle in der bakteriologischen Literatur zu findenden zahlenmäßigen Angaben von Gasverhältnissen mit Vorsicht aufzunehmen, soweit sie sich nicht ausdrücklich auf eine exaktere Methode gründen. Welche Bedingungen eine Methode erfüllen muß, um als einwandfrei gelten zu dürfen, werden wir später sehen.

Der von Mendel benutzte Apparat entsprach auch ganz dem Gärkölbchen von Smith.

Obwohl ich es als selbstverständlich erachte, so muß ich dennoch ausdrücklich darauf hinweisen, daß auch in größeren Dimensionen ausgeführte, im übrigen aber nach dem Prinzip der Smith-Kölbchen gebaute Gärapparate, wie sie Hofstädter (23) empfahl, nicht imstande sind, die Ergebnisse günstiger zu gestalten.

Die Apparate von Hofstädter stellen in gewisser Hinsicht ja einen unverkennbaren Fortschritt dar und bieten auch Bequemlichkeiten. Weil ihnen jedoch hinsichtlich der in Frage stehenden Punkte alle Mängel des Smithschen Kölbchens anhaften, so kann bei der Beurteilung ihrer Tauglichkeit zu exakten Untersuchungen im oben erwähnten Sinne von ihnen nur das wiederholt werden, was ich schon von den kleinen Kölbchen gesagt habe.

Wie hoch Smith die Leistungsfähigkeit der von ihm so sehr empfohlenen Gärkölbchen einschätzt, ergibt sich aus seiner Forderung, nach der „nicht nur Gasbildung, sondern auch der Gang derselben, die totale Quantität und die Qualität CO_2 bestimmt werden muß". Die Rechtfertigung meines abfälligen, mit der von Smith ausgesprochenen Leistungsfähigkeit scharf im Widerspruch stehenden Urteils, sei mir gestattet mit einer Beantwortung der Frage, welche Eigenschaften ein zu exakten Untersuchungen tauglicher Apparat aufweisen muß.

Die zu erfüllenden Bedingungen sind kurz: Allen Bakterien gleiche Lebensbedingungen, ihren Stoffwechselprodukten verlustlose Ansammlung! Leichte und einfache Handhabung kommt für wissenschaftliche Untersuchungen erst in zweiter Linie in Betracht.

Können die im Prinzip dem Smithschen Gärkölbchen gleichenden Apparate bei der Betrachtung unter diesen beiden Gesichtspunkten bestehen?

Zur Beantwortung dieser Frage müssen wir uns den Vorgang, wie er sich in den Gärkölbchen abspielt, vergegenwärtigen. Mit der Zunahme der im geschlossenen Schenkel sich ansammelnden Gase treten Nährlösung und mit ihr Bakterien in den offenen, nur mit Watte verstopften Teil. Die hier entstehenden Gase werden, soweit sie nicht von der Flüssigkeit absorbiert bleiben, durch die Watte entweichen. Dadurch entstehen Verluste, proportional der in beiden Schenkeln stehenden Flüssigkeitssäule; also bei gleicher Höhe 50 Proz. Würde der Verlust, wie Th. Smith glaubt, nur die absolute, nicht die relative Menge der einzelnen Gase treffen, so wäre dies allerdings kein Nachteil. Die Smithsche Ansicht ist jedoch irrig. Die Tatsachen widersprechren ihr insofern, als die in Betracht kommenden beiden Gase, Wasserstoff und Kohlendioxyd, in sehr verschiedenem Maße von Flüssigkeiten absorbiert werden.

Diese Tatsachen sind bisher leider nicht beachtet worden. In der Literatur finden sich nur vereinzelt Hinweise auf die Untauglichkeit der Smithschen Gärkölbchen.

Mendel hält zwar die kleinen Gärkölbchen „zur genauen Untersuchung der gebildeten Gase" für ungeeignet, aber nur wegen ihrer zu kleinen Dimension und der infolgedessen nur geringen Menge der in ihnen gebildeten Gase, nicht jedoch wegen des ihnen zugrunde liegenden Prinzips; denn tatsächlich unterscheidet sich der Hofstädtersche Apparat durch nichts von ihnen als durch seine Größe und den Besitz eines Gasablaßhahnes.

Burri und Düggeli erachten die Smith-Kölbchen für unzulänglich, weil die Gärung in ihnen nicht unter streng einheitlichen Be-

dingungen verläuft und weil Gase durch den offenen Schenkel entweichen können. Den Hauptfehler, der zu den schwersten Irrtümern geführt hat, ermessen auch sie nicht in seiner ungeheuren Tragweite, und daher trifft auch die von Burri-Düggeli angegebene Methode der schwere Einwand, daß auch sie bei noch so peinlichem Arbeiten keine exakten Resultate zu liefern vermag; denn sie trägt der Gasabsorption nicht Rechnung. Auf diesen Mangel der Methode Burri-Düggelis hinweisend, habe ich (24) in einer früheren Mitteilung in diesem Centralblatt den Weg gezeigt, wie die recht einfache und bequeme Methode zur exakten umgestaltet werden kann.

Es ist sehr zu verwundern, daß die Untersucher nicht schon früher auf die in der Gasabsorption liegende enorme Fehlerquelle gestoßen sind, bzw. daß sie so lange dazu schweigen konnten. Und es ist mir unverständlich, wie Wolffin, dem, wie aus seiner Tabelle über die Absorptionsgrößen von vier Gasen (Wasserstoff, Sauerstoff, Stickstoff, Kohlendioxyd) hervorgeht, die Folgen der Vernachlässigung der Absorption hätten in erster Linie bekannt sein dürfen, sich über diese Tatsache hinwegsetzen konnte damit, daß „beim Auffangen von Gasen über Wasser CO_2-Verluste nicht zu vermeiden" seien!

Danach darf es uns nicht mehr wundern, wenn die irrige Ansicht von Smith, daß der Gasverlust nur die absolute, nicht die relative Gasmenge treffe, noch von L. Heim (25) in der neuesten Auflage seines Lehrbuchs der Bakteriologie zitiert wird.

Doch fragen wir uns, sind denn die Fehler, die durch die unberücksichtigt bleibende Gasabsorption entstehen, tatsächlich so beträchtlich?

Nach Landolt-Börnstein (26) ist das Verhältnis der Absorptionskoeffizienten von Kohlendioxyd zu Wasserstoff bei 760 mm Druck und den Temperaturen

20° C 0,878 : 0,0177 = 49,6 : 1
35° „ 0,592 : 0,0157 = 37,7 : 1

Diese Zahlen werden erst anschaulich, wenn man sich die z. B. von 1 l Wasser absorbierte Menge vorstellt: 1000 ccm können absorbieren bei:

35° C 15,7 ccm H_2 gegenüber 592 ccm CO_2
20° „ 17,0 „ „ „ 759 „ „

Mit fallender Temperatur wird das Verhältnis immer ungünstiger; es ist bei 5° C 19,6 ccm H_2 : 1424 ccm CO_2. Wollte man die absorbierten Gase nicht nach dem Volumen, sondern wie es zur Aufstellung von Gärungsgleichungen erforderlich wäre, nach dem Gewicht vergleichen, so gestaltete sich das Verhältnis noch 22mal ungünstiger. Es werden absorbiert von 1000 ccm Wasser:

bei 35° C 1,106 g CO_2 bzw. 0,001343 g H_2
„ 20° „ 1,689 „ „ „ 0,00156 „ „

Die Gewichtsmenge absorbierten Kohlendioxyds ist also bei 35° 823mal, bei 20° 1082mal, bei 5° 1842mal so groß wie die des Wasserstoffs. Diese für Wasser gefundenen Werte der Absorptionskoeffizienten werden für andere Flüssigkeiten, wie z. B. für Peptonlösungen verschieden sein. Mögen die Zahlen dabei vielleicht auch mehr konvergieren, so werden trotzdem die ohne Berücksichtigung der Absorption mit noch so großer analytischer Sorgfalt erhaltenen Resultate kein richtiges Bild von der Gaszusammensetzung geben können.

Es ist also dringend erforderlich, bei exakten Untersuchungen der Gase auch ihre absorbierten Reste zu bestimmen.

In welcher Weise hat sich denn die bisher übersehene Tatsache der verschiedenen Gasabsorption geltend gemacht? Werfen wir wieder einen

Blick auf die Literatur. Nicht nur verschiedene Untersucher finden für das Verhältnis von $H_2 : CO_2$ bei Bacterium coli in Glukose ganz andersartige Werte; selbst ein und derselbe Untersucher gelangt für einen einzigen Stamm bei verschiedener Glukosekonzentration ceteris paribus zu sehr wechselnden Verhältniszahlen. Bei Mendel schwanken sie bei Bacterium coli in verschiedenen Glukosekonzentrationen von $H_2 : CO_2$ zwischen 2 : 1 und 9 : 1. Wolffin erhielt, wie oben schon mitgeteilt, bei dem gleichen Stamm seines mit Bacterium coli wohl identischen Bacterium brassicae acidae in genau derselben Gärlösung einen sehr verschiedenen Wert für das Verhältnis $H_2 : CO_2$, je nachdem die Bakterien bei 20° oder 35° gehalten wurden.

Das Verhältnis war:

bei 20°	bei 35°
$H_2 : CO_2$	$H_2 : CO_2$
1 : 2,9	1 : 6,3

Hieraus müssten wir schließen, daß das Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ zunächst für Bacterium coli in Glukose, dann aber, wie die Literatur weiter zeigt, auch in anderen Zuckerarten und, wie sich ergibt, für die verschiedensten Bakterien eine willkürlich schwankende, durch geringfügige Faktoren wesentlich veränderte, unberechenbare Größe darstellt.

Das Gleiche besagt Freeland Howe mit den Worten seiner oben zitierten Arbeit: „. . .it was desired to learn something of the constancy of the gas formula, if there is any such a thing as constancy.“ Oder an anderer Stelle: „The production of gas by a culture of bacteria is a physiological function which in all probability is liable to variation, depending wholly on the various factors or components of the environment to which a particular culture of bacteria is at the time of study or has in the past been subjected.“

Es ist somit als zwecklos zu bezeichnen, wenn man, wie das tatsächlich von Th. Smith (28) geschehen ist, das Verhältnis von Wasserstoff und Kohlendioxyd zum Art-Charakteristikum macht.

Bei einem nur ganz flüchtigen Vergleich der Angaben über das Gasverhältnis fällt uns auf, daß fast immer der Wasserstoff das Kohlendioxyd an Menge weit überragt, ungefähr um das zwei-, drei-, vier-, sechs-, ja sogar acht- bis neunfache. Da wir nun wissen, daß Wasser von Zimmertemperatur ein 50mal größeres Volumen Kohlendioxyd als Wasserstoff zu absorbieren vermag, so ist der Verdacht, daß bei fast allen früheren Untersuchern die unberücksichtigt gebliebene Gasabsorption den Wert der Ergebnisse beeinträchtigt hat, nicht mehr von der Hand zu weisen. Es handelt sich daher im folgenden für mich nur noch darum, zu zeigen, daß kein anderes Moment so sehr zur Erklärung der gewaltigen Widersprüche herangezogen werden muß, als die vernachlässigte oder überhaupt nicht erkannte Gasabsorption, und daß diesem Moment gegenüber alle anderen Faktoren wie „Rassenunterschiede“, „Stammeseigentümlichkeiten“, „unerforschte physiologische Vorgänge“, all diese Gründe, mit denen man früher so schnell zur Hand war, zwar nicht auszuschalten sind, aber weit zurücktreten müssen.

Ich will nunmehr zeigen, zunächst an eigenen diesbezüglichen Versuchen, wie das Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ für Bacterium coli und Bacterium lactis aërogenes bei exaktem Arbeiten sich gestaltet und dem gegenüber, zu welch illusorischen Resultaten die Vernachlässigung der absorbierten Gase führen muß. Ich wähle von meinen Versuchen (29) gerade die zwei folgenden heraus, weil gerade Bacterium coli und Bacterium lactis aërogenes hinsichtlich der

Frage nach der quantitativen Zusammensetzung der aus Glukose gebildeten Gase zu bisher zahllosen Untersuchungen geführt haben. Ich bediente mich bei diesen Untersuchungen des von mir konstruierten, am Schlusse dieser Mitteilungen zu skizzierenden großen Apparates. Die in diesem Gärapparat festgestellten Mengen absorbierter Gase beliefen sich je nach der Konzentration der Nährlösung auf 15—35 Proz. des Flüssigkeitsvolumens. Das Verhältnis von $H_2 : CO_2$ in der absorbierten Gasmenge war etwa 1 : 20. Die absorbierte Kohlensäure machte also 95 Proz. der absorbierten Gase aus.

Bei Bacterium lactis aërogenes in 2,5 Proz. Glukose gestaltet sich das Verhältnis von $H_2 : CO_2$ je nach der Berücksichtigung der absorbierten Gasmenge (308 ccm; 18,3 ccm H_2 und 294,2 ccm CO_2), wie folgt:

Tabelle 2.

1. Mit Berücksichtigung:			2. Ohne Berücksichtigung:		
ccm $H_2 + CO_2$	ccm H_2	ccm CO_2	ccm $H_2 + CO_2$	ccm H_2	ccm CO_2
			798,0	311,4	486,6
			—308,0	—13,8	—294,2
798,0	311,4	486,6	490,0	297,6	192,4
$H_2 : CO_2 = 39,0 : 61,0$			$H_2 : CO_2 = 60,7 : 39,3$		
$= 1 : 1,56$			$= 1,54 : 1$		
$= \mathbf{2 : 3}$			$= \mathbf{3 : 2}$		

Das Verhältnis $H_2 : CO_2$ kehrt sich also vollkommen um:

	$H_2 : CO_2$
Es ist mit Berücksichtigung der Absorption	$39,0 : 61,0 = \mathbf{2 : 3}$
„ „ ohne „ „ „	$60,7 : 39,3 = \mathbf{3 : 2}$

Für Bacterium coli in 2,5 Proz. Glukose (absorbierte Gase 345,2 ccm; 15,1 ccm H_2, 330,1 ccm CO_2) ist das Verhältnis:

Tabelle 3.

1. Mit Berücksichtigung			2. Ohne Berücksichtigung		
ccm $H_2 + CO_2$	ccm H_2	ccm CO_2	ccm $H_2 + CO_2$	ccm H_2	ccm CO_2
			861,3	422,3	439,9
			—345,2	—15,1	—330,1
861,3	422,3	439,0	516,1	407,2	108,9
$H_2 : CO_2 = 49,0 : 51,0$			$H_2 : CO_2 = 78,9 : 21,1$		
$= \mathbf{1 : 1}$			$= 1 : 0,26$		
			$= \mathbf{4 : 1}$		

Beachtet man exakterweise die absorbierten Gase, so findet man **gleiche** Mengen H_2 und CO_2. Wird die Absorption vernachlässigt, so wird das Resultat ganz anders, der Wasserstoff überwiegt dann **vierfach** das Kohlendioxyd.

Nun möchte ich den Gegenbeweis erbringen und umgekehrt zeigen, daß sich die Resultate anderer Untersucher annähernd mit den meinigen in Einklang bringen lassen, wenn wir nachträglich die vernachlässigte Absorptionsgröße berechnen und in Betracht ziehen. Das ist zwar nicht exakt, aber doch annähernd möglich.

Ich greife dazu aus dem zahlreichen Analysenmaterial von Mendel eine Angabe heraus; Bacterium coli in 2 Proz. Glukose. Auf Grund der beigefügten Daten erhalten wir folgendes Resultat:

Der von Mendel benutzte Apparat von Hofstädter faßte ungefähr 330 ccm Flüssigkeit. Setzen wir die CO_2-Absorption mit 10 Proz. des Flüssigkeitsvolumens an, so ergibt das 33 ccm CO_2. Mendel fand als Gesamtgasmenge 78,6 ccm mit 30 Proz. CO_2. Das Uebrige ist Wasserstoff = 55,0 ccm H_2. Nehmen wir zu dieser Menge die absorbierte CO_2-Menge, so finden wir: $H_2 = 55{,}0$ ccm; $CO_2 = 56{,}6$ ccm. Das Verhältnis $H_2 : CO_2$ ist demnach = 1 : 1. Wollten wir auch die durch den offenen Schenkel des Apparats entwichenen Gase berücksichtigen, so müßten wir auf Grund einiger Ueberlegungen, die ich hier nicht ausführen will, und die sich aus unseren früheren Betrachtungen über den Apparat von Hofstädter ergeben, noch etwa 8 ccm H_2 und 3,4 ccm CO_2 hinzurechnen. Das Verhältnis ist dann 63 : 60, bleibt also noch 1 : 1.

Wir erhalten auf diese Weise einen Wert, wie ich ihn nach meiner Methode einwandfrei bekommen habe.

Im folgenden wollen wir noch einige Literaturangaben betrachten und sehen, welche Tatsachen sich daraus zur Beurteilung der Bedeutung der Absorption ergeben.

Was zeigt uns die folgende Tabelle, die ich der Arbeit von Mendel entnehme? Mendel fand:

Tabelle 4.

Bei Proz. Laktose	ccm Gesamtgasmenge	Proz. CO_2	Proz. H_2
1	216,7	61,43	37,41
5	82,0	22,19	76,84
10	75,4	25,33	73,17
15	69,1	24,02	74,98
20	56,8	22,35	76,53

Wie ist es zu erklären, daß das Verhältnis von $H_2 : CO_2$ ist:

bei 1 Proz. = 61,43 : 37,4 = 3 : 2
bei 5 bis 20 Proz. = ca. 25 : 75 = 1 : 3?

Die Steigerung des Zuckergehalts der Nährlösung von 1 Proz. auf 5 Proz. bewirkt, daß sich das Verhältnis von $H_2 : CO_2$ vollständig umkehrt, während es bei 10, 15 und 20 Proz. gleich dem, wie bei 5 Proz. bleibt.

Wir werden wahrscheinlich die Ursache auch hier nicht mit Unrecht in der Absorption vermuten. Wir finden dazu eine Stütze durch folgende Ueberlegung: Es sei angenommen, daß eine Flüssigkeit von bestimmtem Volumen 10 ccm eines Gases zu absorbieren vermag. Beträgt die Gesamtgasmenge 20 ccm, so stellt sich der Verlust, den sie durch die Absorption erleidet, auf 50 Proz., beträgt sie aber 100 ccm, dann verliert sie nur 10 Proz.

Betrachten wir wieder die Tabelle, und vergleichen die Gesamtgasmenge mit dem Prozentgehalt an CO_2, dann zeigt sich mit auffallender Regelmäßigkeit:

1) bei großer Gesamtgasmenge der CO_2-Gehalt hoch;
2) bei geringerer Gasmenge der CO_2-Gehalt niedriger.

Der Parallelismus ist sehr deutlich und steht im vollen Einklange mit unserer Ueberlegung.

Diese Tabelle ist aber nicht etwa als besonders günstig für unsere Ansicht herausgegriffen; sie bildet keine Ausnahme. Betrachtet man andere Untersuchungsergebnisse der Mendelschen Arbeit, dann findet man dasselbe: wie z. B. bei Bacterium cloacae in Saccharose. Es findet sich hier bei Zuckergehalten von 1—20 Proz. kein Unterschied.

Der CO_2-Gehalt der Gase liegt stets bei 70 Proz. Bacterium cloacae verhält sich hier also scheinbar ganz anders! Das ist aber nicht der Fall; denn die Gesamtmengen liegen alle über 150 ccm. Je größer aber die Gasmenge ist, um so geringer wird auf 100 berechnet der Verlust durch Absorption.

Wir finden in anderen Tabellen immer deutlich diesen Zusammenhang zwischen Gasmenge und CO_2-Gehalt bestätigt. Keine der Tabellen, so zahlreich sie auch sind, macht eine Ausnahme. Dem Maximum an CO_2 entspricht stets eine hohe Gasmenge; wenig Gas zeigt geringen CO_2-Gehalt.

Es kann uns nicht verwundern, wenn demnach Mendel für Bacterium cloacae in Glukose in Uebereinstimmung mit Smith und meinen Resultaten den CO_2-Gehalt hoch findet.

Es ist

	$H_2 : CO_2$
nach Mendel	29,19 : 70,29
	= 1 : 2,4
nach Smith	= 1 : 2—3
nach mir	24,5 : 75,5
	= 1 : 3

Beachten wir, daß Bacterium cloacae ein ausgesprochen kräftiger Gasbildner ist, und vergegenwärtigen wir uns, daß Mendel von verschiedenen Analysen mit steigendem CO_2-Gehalt stets die letzte, also die höchste CO_2-Menge angibt, so kann uns sein Ergebnis nicht wundern.

Es darf aus der Uebereinstimmung des Mendelschen Wertes mit meinem nicht die Richtigkeit seiner übrigen Resultate geschlossen werden.

Innerhalb ein- und derselben Tabelle Mendels ist, wie wir vorher sahen, keine direkte Abhängigkeit des CO_2-Gehaltes der Gase von der Konzentration des Zuckers festzustellen gewesen. Eine Regelmäßigkeit zeigte sich nur in dem Verhältnis des CO_2-Gehaltes zur Gesamtgasmenge.

Tabelle 5.

I. Gasmenge bis zu 100 ccm.

1	2	3	4	5
ccm	Proz. CO_2	Bakterium	Proz. Zucker	Tabelle bei Mendel
9,7	10,30	Coli	18 Glukose	4
8,35	10,77	Proteus vulg.	1 Sacharose	12
11,35	14,00	„ „	20 Glukose	10
13,1	14,50	Bac. Fitzianus	30 Maltose	8
14,2	13,66	Coli	14 „	5
22,0	13,63	Prot. vulg.	15 Glukose	10
27,4	21,13	Coli	15 „	4
29,3	18,08	Prot. vulg.	5 Maltose	11
32,9	23,40	„ „	10 „	11
44,7	27,29	Bac. Fitz.	20 Glukose	7
61,9	28,27	Coli	9 Laktose	6
70,6	25,34	Lact. aërog.	1 Maltose	18
86,8	28,34	Coli	8 Glukose	4
80,0	30,12	Bac. Fitz.	20 Laktose	9
84,7	31,25	Coli	0,5 Glukose	4
95,6	32,32	„	2 Maltose	5
97,3	32,68	Bac. Fitz.	1,5 Glukose	7

Macht sich denn aber nicht ein Unterschied bemerkbar, wenn das gleiche Bacterium verschiedene Zuckerarten vergärt? Nach meinen Untersuchungen müßten wir das hier erwarten. Doch sehen wir daraufhin die Mendelschen Resultate an! Es zeigt sich aber auch nun kein Unterschied. Es tritt, wie auch zuvor, nur die Abhängigkeit des CO_2-Gehaltes von der Gasmenge mit gleicher Deutlichkeit zutage.

Ich stelle, um diesen Parallelismus zwischen Gesamtgasmenge und Kohlendioxyd ganz besonders deutlich zu zeigen, in den beiden Tabellen 5 und 6 eine Anzahl der Mendelschen Resultate zusammen. Als einzige Richtschnur gilt mir dabei nur die Menge Gesamtgas, ohne Rücksicht auf Zucker- und Bakterienart (Tab. 5).

Der Parallelismus zeigt sich ganz deutlich; es ist das auch der Fall bei der Gasmenge über 100 ccm hinaus bis zum Höchstbetrage von 459 ccm (Tab. 6).

Tabelle 6.

II. Gesamtgasmenge von 100 bis 459 ccm.

1	2	3	4	5
ccm	Proz. CO_2	Bakterium	Proz. Zucker	Tabelle bei Mendel
101,3	33,2	Bac. Fitz.	12 Maltose	8
128,4	37,97	Cloacae	20 „	14
142,8	42,31	Lact. aërog.	5 „	18
163,5	52,24	„ „	10 Sacharose	20
191,9	55,90	Cloacae	1 Maltose	14
209,8	56,50	„	5 „	14
216,7	61,43	„	1 Laktose	15
273,3	64,31	„	15 Glukose	13
326,4	66,74	„	10 „	14
355,9	66,82	„	5 „	13
378,4	70,29	„	1 „	13
364,0	74,45	„	10 Sacharose	16
459,0	73,40	„	15 „	16

Die Ergebnisse dieser beiden Zusammenstellungen lassen sich dahin zusammenfassen: Der CO_2-Gehalt der Gase ist abhängig von ihrer Menge; bewegt sich die Gasmenge innerhalb der Grenzen A, so nimmt der CO_2-Gehalt die Werte von B an. (Tab. 7.)

Tabelle 7.

A Gasmenge ccm		B Proz. CO_2 etwa	
von	bis	von	bis
10	20	10	15
20	30	15	20
30	75	20	28
75	100	28	32
100	150	33	40
150	200	40	55
200	300	55	65
300	450	65	75

Deutlicher und nachdrücklicher kann der Beweis von dem Parallelismus zwischen CO_2-Gehalt und Gesamtgasmenge nicht erbracht werden als durch diese Zusammenstellungen.

Mendel kam bei der Deutung seiner Ergebnisse zu dem Resultat, daß die quantitative Zusammenstellung der Gase bei dem gleichen Bac-

terium bei einer Zuckerart für jede Konzentration derselben verschieden sei. Das spräche gegen die Tatsache von der Konstanz der Arten. Erst recht wäre das nach den Ergebnissen unserer soeben angestellten Betrachtung der Mendelschen Resultate der Fall. Hat sich doch dabei ergeben, daß die fünf verschiedenen Bakterienarten (Bacterium coli, lactis aërogenes, vulgare, cloacae und Bacillus Fitzianus) nicht einmal bei ihrer Vergärung der vier Sacharide (Glukose, Maltose, Laktose und Sacharose) einen Unterschied in der Gaszusammensetzung aufweisen. Es zeigte sich sogar im Gegenteil große Regelmäßigkeit in dem Verhältnis von $H_2 : CO_2$ und zwar so, daß sich der **CO_2-Gehalt** als eine veränderliche Größe herausstellte, die **abhängig** ist **nur von der Gasmenge.**

Die tatsächlich bei den fünf Bakterienarten Mendels vorhandenen beträchtlichen Unterschiede, die sich namentlich auch in der quantitativen Zusammenstellung der Gase hätten ausdrücken müssen, wurden vollständig unterdrückt durch die Vorherrschaft des Gesetzes von der Gasabsorption; denn dieses fand keine Berücksichtigung. Es liegt mir daran, darauf hinzuweisen, daß Mendel hier nicht allein steht. Dieser Vernachlässigung machten sich in gleicher Weise alle Untersucher schuldig. Die Mendelsche Arbeit bietet aber das umfangreichste Material, aus dem sich die Bedeutung der Absorption am besten beweisen und vor Augen führen läßt.

Dieser gleiche Zusammenhang zwischen Gesamtgasmenge und ihrem CO_2-Gehalt, wie er sich bei Mendel nachweisen ließ, scheint auch bei den Resultaten von Freeland Howe vorzuliegen. Howe arbeitete, wie schon anfangs bemerkt, mit fast 400 Coli-Stämmen und fand bei diesen in Glukose Gasgemische mit folgendem CO_2-Gehalt (Tab. 8).

Tabelle 8.

Zahl der Stämme	CO_2-Gehalt des Gases Proz.	Zahl der Stämme	CO_2-Gehalt des Gases Proz.
14	0	25	45
2	5	28	50
2	10	20	55
5	15	15	60
15	20	17	65
45	25	11	70
183	35	1	75

Howe bediente sich zu diesen Feststellungen der kleinen Smith-Gärkölbchen. Leider machte er keine Angaben über die Menge der gebildeten Gase. Nur bezüglich der in Tabelle 8 zuerst aufgeführten 14 Stämme, die ein Gas lieferten, in dem er kein Kohlendioxyd nachweisen konnte, berichtet er, daß hier auch die Gesamtgasmenge sehr gering war. Der CO_2-Anteil dieser von den 14 Coli-Stämmen gebildeten Gasmenge war im Verhältnis zum Volumen der Gärlösung so minimal, daß er weit zurückbleiben mußte hinter der der Absorptionsfähigkeit der Flüssigkeit entsprechenden Größe. Denn erst von einem bestimmten Sättigungsgrade der Lösung an wird ein Gas über der Flüssigkeit stehen können. Dieser Grad liegt, wie wir wissen, für Kohlendioxyd sehr hoch. Es hätte also für diese 14 Coli-Stämme nichts Anderes erwartet werden dürfen. Uebrigens derartige Stämme, die Glukose so schlecht vergären, sind als Vertreter des Bacterium coli eine Seltenheit, man würde vielleicht besser tun, sie nicht als solche zu bezeichnen. — Wie Tabelle

8 zeigt, bildet etwa die Hälfte der Howeschen Stämme ein Gas mit 35 Proz. CO_2, also einem Drittel der Gesamtgasmenge. Das Verhältnis von $H_2 : CO_2$ ist demnach = 2:1. Hier haben wir es wohl mit dem am weitesten verbreiteten Coli zu tun, das in Glukose ziemlich stark Gas bildet. Den in der Tabelle dann aufgeführten Stämmen müssen wir ein außergewöhnlich kräftiges Gärvermögen zuschreiben. Und zwar dürfen wir dies im Hinblick auf den bei Mendel konstatierten strengen Parallelismus zwischen Gesamtgasmenge und ihrem CO_2-Gehalt mit einiger Berechtigung wohl tun.

Diese Betrachtung von diesem Gesichtspunkte aus zeigt, wie haltlos die von verschiedenen Seiten geäußerte Ansicht: Verschiedene Rassen derselben Art könnten Wasserstoff und Kohlendioxyd in jedem Verhältnis bilden, nunmehr ist. Die von Howe mit 400 Coli-Stämmen gewonnenen Zahlen, sowie auch die 150 Analysen von Mendel bieten dieser Ansicht nicht die geringste Stütze; denn ihre Ergebnisse sind auf falscher experimenteller Grundlage erhalten. Rassenunterschiede möchte ich damit aber keineswegs vorerst ausschließen, aber so viel steht fest, daß es sich dabei in keinem Falle um derartige Differenzen in dem Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ handeln kann, wie sie die Literatur aufweist. Es wäre überhaupt sehr wünschenswert, sich der schweren, aber dankenswerten Mühe zu unterziehen, den Begriff Bacterium coli commune einmal recht präzis zu fassen und zu prüfen, wie weit wir von Rassen des Bacterium coli reden dürfen und wieweit sich unter dem Bacterium coli andere, freilich sehr verwandte Arten verbergen.

Wie weit Rassenunterschiede bezw. Stammeseigentümlichkeiten im Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ zum Ausdruck kommen, darüber werden zurzeit im Hygienischen Institut Untersuchungen ausgeführt, über die nächstens berichtet werden soll.

Die wiederholt erkannte Gesetzmäßigkeit von dem Korrespondieren des CO_2-Gehalts mit der Gesamtgasmenge liegt bei allen Untersuchern vor, deren Ergebnisse von der Absorption beeinflußt werden. Freilich ist sie wegen ungenügender Angaben nicht in jedem Falle so deutlich nachzuweisen wie bei Mendel. Aber wenn nur exakt gearbeitet wurde, so muß sie sich doch erkennen lassen. Als Beweis dafür sei noch die Arbeit von Burri und Düggeli (4) angeführt. Auch nach ihrer Methode sind, das habe ich an anderer Stelle (24) eingehend begründet, keine exakten Resultate zu erwarten. Auf die Größe des Absorptionsfehlers der Methode kommt es jetzt nicht an; hier soll die auf Grund der Absorption in den Mendelschen Tabellen aufgetretene Gesetzmäßigkeit an Hand einiger unter ganz anderen Verhältnissen gewonnenen Ergebnisse festgestellt werden.

Es kommen drei Coli-Stämme in Frage (Burri-Düggeli loc. cit. Tab. 3, Stämme 1, 2, 3). Ordnet man nach der Gasmenge und rechnet die von Burri und Düggeli mitgeteilten ccm CO_2 um in Proz. der Gesamtgasmenge, so ergibt sich folgendes anschauliche Bild (Tab. 9).

Tabelle 9.

Colistamm	I. Bestimmung		II. Bestimmung	
	Gasmenge ccm	Proz. CO_2	Gasmenge cm	Proz. CO_2
3	8,0	31,25	8,25	33,33
2	9,5	31,58	10,5	35,75
1	11,0	31,82	11,25	35,56

Die gebildete Gesamtgasmenge ist gering und die Differenz sehr klein. Stellen wir in Bestimmung I die Stämme 3, 2 und 1 einander gegenüber, so zeigt sich in den Dezimalen das Ansteigen des CO_2-Gehaltes proportional der Gesamtmenge; und zwar entspricht 1,5 ccm der Gasmenge einem Wachsen der CO_2-Menge um 0,3 Proz. Bei Bestimmung II ist die Differenz etwas größer und besser zu erkennen zwischen den Stämmen 3 und 2, bzw. 3 und 1.

Aus derselben Arbeit sei noch ein Resultat angeführt (loc. cit. Tab. 2, Stamm 37 „typ. Bact. aërogenes"). Dieser Stamm wurde dreimal von Burri und Düggeli nach ihrer Methode auf das Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ geprüft. Sie teilen hier die ccm der einzelnen Gase nicht mit, und so ist es zwecklos, die CO_2-Menge auf Proz. der Gasmenge auszurechnen. Ich setze daher zum Vergleich den Wasserstoff = 1 und wir erhalten:

Tabelle 10.

Stamm	ccm Gasmenge	$H_2 : CO_2$
37	9,5	8 : 11 = 1 : 1,37
37	30,0	1 : 2
37	34,0	1 : 2 = 1 : 2

Die Abhängigkeit des Kohlendioxyds von der Gasmenge tritt deutlich hervor. Es zeigt sich

bei 9,5 ccm Gesamtgas nur $^1/_3$ mehr CO_2 als H_2,
bei 30 ccm Gesamtgas doppelt soviel CO_2 alt H_2.

In beiden Fällen finden wir die beste Bestätigung für die Regelmäßigkeit in dem Verhältnis von CO_2 zur Summe $H_2 + CO_2$. Dies geschieht trotz der minimalen Differenz der Gesamtgasmengen auch in der vorletzten Tabelle (Tab. 9).

Noch eine auffallend deutliche Bestätigung dieses Zusammenhangs zwischen Gasmenge und Gaszusammensetzung ergibt sich aus der Arbeit von Thaysen (31), die aus allerneuester Zeit stammt. Thaysen bediente sich zu seinen Feststellungen der von verschiedenen Coli-ähnlichen Stämmen in Glukose gebildeten Gase ebenfalls der Methode von Burri-Düggeli. Bei seiner ein halbes Jahr später erfolgten Wiederholung der Bestimmungen kommt Thaysen zu wesentlich anderen Ergebnissen für das Verhältnis von $H_2 : CO_2$. Er glaubt, daß „diese Unterschiede in dem Vergärungsvermögen sich nicht auf Zufälligkeiten zurückführen lassen, sondern im Zusammenhang mit der erfolgten Anpassung stehen müssen", zumal er „die Zuverlässigkeit der gebrauchten Gasbestimmungsmethode nach Burri-Düggeli festgestellt hatte" (!).

Ich möchte nun zeigen, daß man zu einer ganz anderen Erklärung kommen muß, wenn man Thaysens Ergebnisse vom Gesichtspunkt der Gasabsorption betrachtet, wie das oben für die Gasangaben Mendels geschah.

Zu diesem Zwecke stelle ich einige besonders anschauliche Resultate aus den Tabellen 17 und 18 Thaysens hier zusammen (Tab. 11).

Hieraus geht der Zusammenhang zwischen Gaszusammensetzung und -menge deutlich hervor. Je größer die Differenz in der Gesamtmenge ist (Vertikalreihe 2), um so mehr differiert auch der Kohlendioxydgehalt. Aber stets entspricht der größeren Gasmenge auch der höhere CO_2-Gehalt. Ganz besonders ist das aus den unter 1 bis 5 aufgeführten Stämmen zu ersehen. Bei den Stämmen 6 bis 10 ist die Differenz (Spalte 2) meist weniger als 5 ccm, daher auch der Unterschied (Spalte 6) entsprechend

Tabelle 11.

		1		2	3	4	5	6
		Thaysens Bezeichnung	Tabelle No.	ccm $H_2 + CO_2$	ccm H_2	ccm CO_2	$H_2 : CO_2$	$H_2 : CO_2$
1	a	B_4	17	7	4,5	2,5	1,8 : 1	1 : 0,55
	b	„	18	28	12	16	0,75 : 1	1 : 1,33
2	a	Bact. imperf.	18	9	5	4	1,25 : 1	1 : 0,8
	b	„ „	17	16	7	9	0,78 : 1	1 : 1,28
3	a	B_4 halb erregt	17	15,5	8	7,5	1,07 : 1	1 : 0,94
	b	„ „ „	18	35	14	21	0,66 : 1	1 : 1,51
4	a	Bact. imperf. erregt	18	11,5	6	5,5	1,1 : 1	1 : 0,91
	b	„ „ „	17	18	7,5	10,5	0,71 : 1	1 : 1,41
5	a	A	18	10	5	5	1 : 1	1 : 1,0
	b	„	17	27	11	16	0,7 : 1	1 : 1,43
6	a	Bact. mutabile	18	9	6,5	2,5	2,6 : 1	1 : 0,38
	b	„ „	17	12	8,5	3,5	2,43 : 1	1 : 0,41
7	a	O_2	18	10	7	3	2,3 : 1	1 : 0,44
	b	„	17	14	9	5	1,8 : 1	1 : 0,55
8	a	K	18	6,5	4,5	2	2,25 : 1	1 : 0,44
	b	„	17	7,5	5	2,5	2 : 1	1 : 0,50
9	a	D_4 erregt	18	10	7	3	2,3 : 1	1 : 0,44
	b	„ „	17	15	10	5	2 : 1	1 : 0,50
10	a	Bact. mut. erregt	18	10	7	3	2,3 : 1	1 : 0,44
	b	„ „ „	17	12,5	7,5	5	1,5 : 1	1 : 0,66

kleiner, aber immerhin noch deutlich auffallend. Ferner zeigt sich, daß, wenn bei einem der unter b aufgeführten Stämme die Gasmenge nicht unter 16 ccm beträgt (1 b, 2 b, 3 b, 4 b, 5 b), dann mehr CO_2 als H_2 gefunden wird (meist das $1^1/_4 - 1^1/_2$-fache des Wasserstoffs).

Der Unterschied in dem Gasverhältnis kann nicht auf irgendwelche innerhalb des zwischen beiden Bestimmungen liegenden Zeitraums von einem halben Jahre erfolgte Funktionsänderung der Bakterienzelle zurückgeführt werden. Darüber kann kein Zweifel sein nach unserer bisherigen Betrachtung. Abgesehen davon, daß ich auf Grund eigener teils später zu veröffentlichender Untersuchungen das Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ bei dem gleichen Stamm für eine konstante Größe halte, die nicht durch

Tabelle 12.

		1		2	3	4	5
		Thaysens Bezeichnung	Tabelle No.	ccm $H_2 + CO_2$	ccm H_2	ccm CO_2	$H_2 : CO_2$
1	a	K. erregt	17	8	5,5	2,5	2,2 : 1
	b	„ „	18	8	5,5	2,5	2,2 : 1
2	a	D_4	17	11,5	8	3,5	2,3 : 1
	b	„	18	11,5	8	3,5	2,3 : 1
3	a	Br	17	12	8,25	3,75	2,2 : 1
	b	„	18	12	8	4	2 : 1
4	a	Br erregt	17	13	8	5	1,6 : 1
	b	„ „	18	14	9	5	1,8 : 1

Anpassung verändert wird, spricht gegen die Annahme Thaysens ferner auch der Umstand, daß in dem Falle, wo bei der ein halbes Jahr später stattgefundenen Neubestimmung die Gasmengen genau gleich geblieben oder nur wenig differieren, das Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ ebenfalls keinen wesentlichen Unterschied aufweist, wie Tab. 12 zeigt.

Es ließen sich auch hier die Gasangaben Thaysens ohne Rücksicht auf die Stämme nur nach der Menge ihres gebildeten Gases in einer Tabelle ordnen, wir würden dann im wesentlichen den gleichen Zusammenhang zwischen Gasmenge und ihrer Zusammensetzung finden, wie er sich an der Hand der Mendelschen Resultate zeigen ließ. Von einer Mitteilung aller Gasangaben kann hier abgesehen werden; hier sollen nur noch einige Gegenüberstellungen von Mutter- und Tochterstämmen des gleichen Bacteriums Platz finden, ohne Unterschied des Zeitpunkts der Bestimmung, wobei ebenfalls die Abhängigkeit des Verhältnisses $H_2 : CO_2$ von der Gasmenge zu konstatieren ist (Tab. 13).

Tabelle 13.

	1		2	3	4	5	6
	Thaysens Bezeichnung	Tabelle No.	ccm $H_2 + CO_2$	ccm H_2	ccm CO_2	$H_2 : CO_2$	$H_2 : CO_2$
1	Bact. imperf.	18	9	5	4	1,25 : 1	1 : 0,80
	Bact. imperf. erregt	18	11,5	6	5,5	1,1 : 1	1 : 0,91
	Bact. imperf.	17	16	7	9	0,78 : 1	1 : 1,28
	Bact. imperf. erregt	17	18	7,5	10,5	0,71 : 1	1 : 1,41
2	E	18	18	8,5	9,5	0,89 : 1	1 : 1,12
	E halb erregt	18	22	10,0	12	0,83 : 1	1 : 1,20
	E erregt	18	32	13	19	0,68 : 1	1 : 1,46
3	B_4	17	7	4,5	2,5	1,8 : 1	1 : 0,55
	B_4 halb erregt	17	15,5	8	7,5	1,07 : 1	1 : 0,94
	B_4	18	28	12	16	0,75 : 1	1 : 1,33
	B_4 halb erregt	18	35	14	21	0,66 : 1	1 : 1,51
	B_4 erregt	18	40	16	24	0,66 : 1	1 : 1,51
4	Bact. mutabile	18	9	6,5	2,5	2,6 : 1	1 : 0,38
	Bact. mut. erregt	18	10	7	3	2,3 : 1	1 : 0,44
	Bact. mut. erregt	17	12,5	7,5	5	1,5 : 1	1 : 0,66

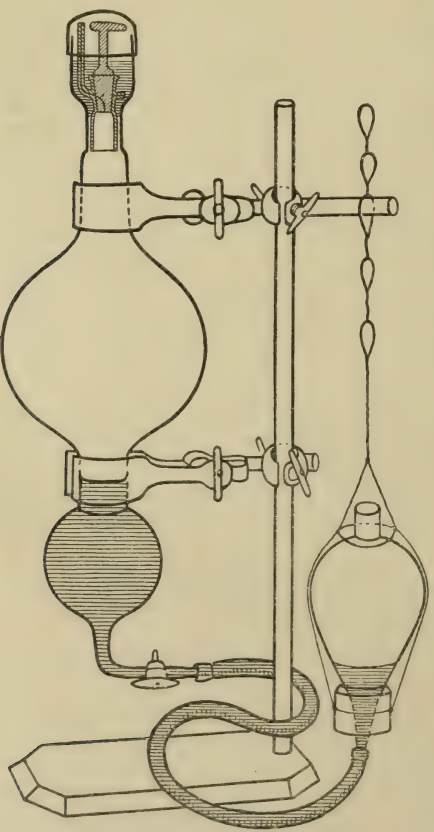
Dieser Parallelismus zwischen der Gesamtgasmenge und ihrer Zusammensetzung, der sich in den mitgeteilten Fällen so auffallend deutlich zu erkennen gab, ist der beste Beweis dafür, daß hier ein Naturgesetz waltet, das Gesetz der Absorption, oder präziser ausgedrückt, das **Gesetz der verschiedenen Absorbierbarkeit von Wasserstoff und Kohlendioxyd.**

Sehr geschickt hatte es sich bisher hinter andern Dingen zu verbergen gewußt; darum hatte es lange Zeit so ungemein verderblich und verwirrend wirken können, ehe es erkannt wurde.

Nachdem ich die Absorption als bedeutsames Moment für die Erklärung der zahllosen Widersprüche und Irrtümer in der Literatur erkannt hatte, bestand, um nunmehr Gärversuche in exakter Weise anstellen zu können, meine Aufgabe darin, einwandfreie Grundlagen für die genaue Ermittelung der Gärungsgase zu schaffen. Den neu zu stellenden Forderungen Rechnung tragend, konstruierte ich zunächst den nun zu beschreibenden Gärapparat. Dieser mußte die in der Methodik der früheren Untersuchungen liegenden Fehlerquellen vermeiden; er mußte

gewährleisten, das die Gärung streng anaërob verlief, daß keine gasförmigen Produkte entweichen konnten, und vor allem mußte er gestatten, die absorbierten Gase exakt ermitteln zu können. Die beigegebene Abbildung zeigt diesen großen Gärapparat in seiner endgültigen Form. Ein Jahr lang habe ich mit ihm experimentiert und er bewährte sich bei all meinen Versuchen in vollkommener Weise.

Die Dimensionen dieses Apparates wählte ich mit Rücksicht auf die ev. Bestimmung der nicht gasförmigen Stoffe und die zu erzielenden Mengen dieser gelösten Produkte (Aethylalkohol, Ameisensäure, Essigsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure) so groß, wie es die Raumverhältnisse des Dampfsterilisationsapparats und des Brutschranks zuließen. Da Gummi wegen seiner Durchlässigkeit für Wasserstoffgas nicht zu verwenden ist, hat der Apparat oben den äußerst praktischen, von E. Hofstädter (23) angegebenen doppelten Hahnverschluß mit Quecksilberdichtung, der die Gase bequem in die Meßbürette überzuführen gestattet. Es ist die Gärflüssigkeit völlig zwischen Quecksilber eingeschlossen, und es ist dadurch verhindert, daß irgendwelche Gärprodukte unbeabsichtigt entweichen können. Ebensowenig ist trotz ziemlich erheblichen Minderdrucks im Innern der Zutritt von Luft von außen und damit die Infektion möglich. Die große Kugel faßt etwa 1 Liter Flüssigkeit; die darunter befindliche, zur Abdichtung mit Quecksilber gefüllte Sperrkugel etwa 200—250 ccm, so daß insgesamt etwa 3—4 kg Quecksilber zur Füllung benötigt werden. Dies erhöht die Kosten des Apparats beträchtlich und stellt große Ansprüche an seine Stabilität. Mit Rücksicht jedoch auf die häufig lebhafte Gasentwicklung und die übrigen Dimensionen ist es nicht angängig, die Quecksilbermenge zu verringern. Der Apparat wird ober- und unterhalb der großen Kugel in ein Stativ eingeklemmt und die Niveaukugel mittels Draht angehängt; sie kann dadurch leicht in beliebige Höhe gebracht werden. Zur Verbindung von Sperr- und Niveaukugel darf nur bester Druckschlauch mit Einlage genommen werden. Zur Füllung wird das Quecksilber auf eine bestimmte Marke eingestellt, der Dreiwegehahn geschlossen und von oben Nährlösung mit entsprechenden Zusätzen eingefüllt, bis zu einer oberen Marke, und dann der obere Glasschliff eingesetzt. Nach dem Oeffnen des Dreiwegehahnes wird die noch im Apparat befindliche Luft vertrieben, der obere Hahn geschlossen und der ganze Schliff unter Quecksilber gesetzt. Um das Verdampfen des Metalls einzuschränken, sowie das Gelockert-



Großer Gärapparat.

werden des Glasschliffs zu verhindern, wird das Ganze mit der Verschlußkappe versehen, und diese mit Draht festgehalten.

Der Apparat wird sodann $^1/_2$ bis $^3/_4$ h im strömenden Wasserdampf sterilisiert; es ist dabei auf allmähliches Erwärmen zu achten. Nach dieser ersten Sterilisation wird unter Schutz des Apparats vor schneller Abkühlung die oben angesammelte Luft ausgetrieben und der Apparat bei tiefgehängter Niveaukugel, unter vermindertem Druck erkalten lassen. Das Verfahren wird am folgenden Tage wiederholt, um die Keime zu vernichten, die etwa die erste Sterilisation überstanden haben, und um andererseits auch die letzten Spuren absorbierter Luft auszutreiben. Nur dadurch wird die Anaërobiosis vollständig. Es kann dies durch die ersten Gasanalysen bestätigt werden.

Der so vorbereitete Gärapparat wird dann zwei Tage lang im Brutschrank gehalten, und wenn er gänzlich unverändert geblieben, sodann mittels steriler Pipette mit 1—2 ccm einer Bakterienaufschwemmung geimpft. Die Gasentwicklung setzt dann nach einigen Stunden mehr oder weniger lebhaft ein.

Diese soeben beschriebene Art der Luftaustreibung durch Auskochen verdient vor der früherer Untersucher, wie der Hardens (13), welcher nach dem Impfen die Luft durch hindurchstreichendes Stickstoffgas verjagte, den Vorzug, und sie ist der einzige zuverlässige Weg, sowohl vor Beginn des Versuchs wie nach Beendigung der Gärung der Gasabsorption gebührend Rechnung zu tragen. Im letzten Falle ist es jedoch nicht so einfach, alle Gase durch Kochen auszutreiben. Es braucht der Apparat zwar bloß in den Kochschen Dampftopf eingestellt zu werden; die Gärlösung gibt dann bei genügend langem Erhitzen in praktisch vollkommener Weise ihre absorbierten Gase frei. Es wird dadurch unterstützt, daß die Niveaukugel tiefgehängt und Unterdruck in dem Apparat erzeugt wird.

Mit Rücksicht auf die Größe der Quecksilbersperrkugel, die der Temperatur entsprechende starke Volumvermehrung der Gase und den entstehenden Wasserdampf können aber die Gasmengen (etwa 200—500 ccm) nicht durch einmaliges Erhitzen ausgetrieben werden. Es muß je nach den Verhältnissen das Kochen fünf- bis achtmal wiederholt werden. Die größere Menge des Kohlendioxyds und auch des Wasserstoffs entweicht beim ersten- bis zweitenmal; hernach überwiegt der Wasserdampf stark. Dieser jedoch scheint dem Freiwerden der Gase nur günstig zu sein. Um die Hartnäckigkeit zu zeigen, mit der das Kohlendioxyd zurückgehalten wird, führe ich folgende Zahlen an. Bei achtmaligem Erhitzen, wobei sich jedesmal etwa 150—170 ccm Gas über der Flüssigkeit ansammelten einschließlich Wasserdampf, der sich aber sofort kondensierte, betrug die Menge Kohlendioxyd 447,3 ccm, die des Wasserstoffs 21,7 ccm. Die einzelnen Portionen hatten folgende Zusammensetzung (Tab. 14):

Tabelle 14.

	1	2	3	4	5	6	7	8	Summe
CO_2	114,6	91,1	61,6	61,2	36,3	36,8	31,5	14,2	447,3
H_2	15,6	14,1	0,8	0,6	0,3	0,2	0,1	—	21,7
$CO_2 + H_2$	130,2	95,2	64,4	61,8	36,6	37,0	31,6	14,2	469,0

Wie diese Zahlen deutlich erkennen lassen, ist die absorbierte Gasmenge ganz beträchtlich: in 1200 ccm vergorener Nährlösung 469,0 ccm. Sie bleibt in ihrer absoluten Größe zwar hinter der zu erwartenden zurück, auch überwiegt die Kohlensäure nicht so sehr den Wasserstoff, als

es den betreffenden Absorptionskoeffizienten für 35—40° C und Wasser entspricht. Beides hat seinen Grund meines Erachtens darin, daß die Nährlösung gegen Ende des Gärversuchs, wo nur noch ganz wenig Gas über der Flüssigkeit sich befindet, die Flüssigkeit längere Zeit unter stark vermindertem Druck steht. Denn nun befindet sich das Quecksilber in der Niveaukugel viel tiefer, als es im eigentlichen Apparat der Fall ist. Die Löslichkeit für Kohlendioxyd scheint dadurch ganz besonders verringert zu werden, während sich die des Wasserstoffs nur wenig ändert.

Die hier beschriebene Art der Bestimmung der absorbierten Gase ist zwar einfach und exakt, jedoch mit Rücksicht auf den stets anwesenden und etwa zu ermittelnden Aethylalkohol und das daher erforderliche Erkaltenlassen der Lösung auf ca 50° C sehr zeitraubend. Dieser Weg bietet jedoch einzig die Garantie für Genauigkeit und ist daher nicht zu umgehen.

Da ich wiederholt der Ansicht begegnet bin, es lasse sich, wie auch Mendel annimmt, Kohlendioxyd schon durch kurzes Erwärmen der Lösung im Wasserbade auf 40—50° C austreiben, so möchte ich hier ausdrücklich darauf hinweisen, daß das nicht der Fall ist, und ich möchte die Ergebnisse des folgenden Versuchs mitteilen, den ich anstellte, um das zu zeigen.

Es wurde 1 l Peptonlösung bei Zimmertemperatur mit Kohlendioxyd gesättigt. Die absorbierte Menge ergab sich aus der Titration mit $n/_{10}$ Lauge. Sodann wurden je 100 ccm verschieden lange auf 50° im Wasserbade im Kolben erwärmt und sodann titriert. Dies stellt zwar keine exakte Kohlendioxyd-Bestimmung dar, sondern ergibt nur Vergleichswerte (Tab. 15).

Tabelle 15.

ccm CO_2 absorbiert von 100 ccm Peptonwasser						
Bei der Temperatur:	17°	50°				80°
Stunden erwärmt:	—	1	1,5	2	2,5	1
ccm CO_2 (0° C u. 760 mm)	55,6	32,5	20,7	13,5	5,5	2,3

Es waren also von der bei Zimmertemperatur gesättigten Lösung, die 55,6 ccm CO_2 enthielt, nach einstündigem Erwärmen im Wasserbad noch 32,5 ccm, nach $2^1/_2$ Stunden noch 5,5 ccm CO_2 vorhanden. Dagegen hatte ein einstündiges stärkeres Erwärmen auf 80° C schon eine Abnahme der gelösten CO_2-Menge bis auf einen Rest von 2,3 ccm zur Folge.

Als Schmiermittel für die Glasschliffe des großen Gärapparates, das möchte ich nicht versäumen zu erwähnen, eignet sich mit Rücksicht auf das öfters zu wiederholende Erhitzen auf 100° am besten eine aus gleichen Gewichtsteilen bestehende Komposition von Talg und Talk. Es empfiehlt sich auch, die Bohrungen der Glashähne etwas weiter zu wählen als gewöhnlich.

Außer diesem großen Gärapparat, der sich zur Untersuchung aller gasförmigen Stoffwechselprodukte von Bakterien eignet, kommt zu Bestimmungen des Gasverhältnisses $H_2 : CO_2$ noch eine andere, einfache, bedeutend schneller auszuführende, dabei exakte Methode in Betracht. Sie wurde, wie schon oben erwähnt, ursprünlich von Burri und Düggeli angegeben; jedoch nur in der Modifizierung, wie ich sie p. 438 des 36. Bandes dieses Centralblattes (2. Abt.) beschrieben habe, kann sie Anspruch auf Genauigkeit machen. Inzwischen hat sie noch eine kleine Veränderung erfahren, die ihre Brauchbarkeit erhöht, ihre Exaktheit aber nicht beeinträchtigt. Darüber noch einige Worte an dieser Stelle. Man

bringt, wie früher angegeben, in ein steriles Röhrchen (größeres Reagensglas von 25 cm Länge, 2 cm Weite) 5—10 ccm verflüssigten Zuckeragars, verrührt mit einem Glasstabe bei 45° in ihm $^1/_2$ ccm einer Peptonwasserkultur und läßt in Eis erstarren. Von dem Deckagar (dies kann unfiltrierter 3-proz. Agar sein), deren Schichtlänge das Dreifache des Rohrdurchmessers betragen soll, gibt man anfangs zweckmäßig nur wenig, 2—3 ccm (50—60° C warm) hinzu, läßt erstarren, füllt danach den Rest ein und kühlt schnell. Hat man peinlich gearbeitet, so darf der Deckagar später keine Gasblasen aufweisen. Nach 24-stündigem Stehen im Brutschrank, wobei das geschlossene Ende der Röhre nach oben gerichtet wird, ist meistens genügend Gas gebildet. Um dies zu analysieren, wird das Rohr über einer pneumatischen Wanne (Meßzylinder von 200 ccm) bis unmittelbar an die Deckagarschicht mit Quecksilber gefüllt. Anstatt des früher von mir angegebenen, ganz aus Glas bestehenden U-Röhrchens, zum Entweichenlassen der Luft, bediene ich mich nunmehr eines U-Röhrchens, dessen kurzer Schenkel nur 1 cm lang ist und mit Gummischlauch überzogen wird. Seine Länge kann dem Stande des Agarzylinders entsprechend leicht verändert werden. Soll das U-Röhrchen entfernt werden, so braucht es nur wenig gesenkt zu werden, worauf es sich durch das Quecksilber herausziehen läßt. Dieses neue U-Röhrchen erwies sich als außerordentlich praktisch. Nunmehr wird das Quecksilber aus dem Meßzylinder so weit entfernt, bis das Kulturrohr fast den Boden des Zylinders erreicht. Oben wird dieser mit Pergament überbunden und dann in den Dampftopf gestellt. Es wird etwas länger erhitzt als nötig, um die Gase aus dem verflüssigten Zuckeragar zu befreien, und zwar so lange, bis infolge der Ausdehnung des Gases die ganze Agarmenge aus dem Kulturrohr herausgetrieben ist und sich im Standzylinder über dem Quecksilber angesammelt hat. Wenn man achtgibt, daß der Zuckeragar nicht eher aus dem Rohr verdrängt wird, als er gasfrei ist — dies kann durch Aenderung des Quecksilberstandes in dem äußeren Zylinder geregelt werden —, so ist es absolut unbedenklich, wenn hernach etwas von dem Gasgemisch entweicht. Das Verhältnis von $H_2 : CO_2$ wird nicht davon betroffen.

Da es uns nur auf diesen Quotienten ankommt, so ist die absolute Menge zu kennen nicht erforderlich. Wird auch dieses gewünscht, so muß man, wie ich ursprünglich angegeben habe, verfahren. Natürlich wird man nicht unnötig länger erhitzen als eben erforderlich ist. Man kann diesen Augenblick, wenn man öfters nachsieht, leicht treffen. Nun wird der Agar aus dem äußeren Zylinder abgesaugt und dann der Apparat erkalten lassen. Da sich im Innern des Kulturröhrchens nur noch Gas und Quecksilber befinden, so ist der Gang weiterhin sehr einfach. Nachdem das Gasvolumen abgelesen ist (Markierung auf einem aufgeklebten Papierstreifen, wenn man die teuren graduierten Röhrchen umgehen will) füllt man mit umgebogener Pipette 1 ccm KOH (1 : 2) ein. Das Kohlendioxyd verschwindet sofort. Der unabsorbierte Rest ist bei exaktem Arbeiten Wasserstoff, vorausgesetzt, daß nur diese beiden Gase gebildet wurden. Aus der Differenz beider Messungen ergibt sich das Kohlendioxyd.

Das Gemeinsame beider beschriebenen Methoden, zugleich das Wesentliche, auf das sie sich gründen, ist das Quecksilber, welches als Sperrflüssigkeit dient. Ohne dieses wären beide Verfahren nicht denkbar. Das Metall ist unersetzlich, soll andernfalls nicht die Exaktheit auf das Maß der Methode von Smith u. a. herabsinken.

Bietet sich aber da nicht eine Schwierigkeit, eine Gefahr? Lösliche Quecksilberverbindungen sind die Feinde jeglichen Lebens. Schließt

diese Erwägung nicht die Verwendung des Quecksilbers und damit die Methode aus?

Diese oder ähnliche Gedanken mögen mit schuld sein, daß bisher Quecksilber nicht verwendet wurde, d. h. als Sperrflüssigkeit in direkter Berührung mit dem Nährmedium.

Doch wie steht es mit der Berechtigung des „Cave Hydrargyrum"? Das Metall als solches ist harmlos; nur seine löslichen Salze wirken bakterizid. Paradox klingt es, daß geringe Mengen derselben nicht nur keine Hemmung auszuüben vermögen, sondern sogar anregend auf das Bakterienplasma wirken. Wird aber dieser Grad überschritten durch größere Gaben, so treten Hemmungen oder Tod ein. Das Maß der bakteriziden Kraft der Salze ist ihrem Dissoziationsgrad proportional. Am stärksten dissoziiert ist das Chlorid; viel schwächer sind es die organischen Salze und daher ihre Gefährlichkeit entsprechend geringer. Zuungunsten der Gifte kommt als Faktor weiter in Betracht die Widerstandskraft der Organismen. Sie ist bei guter Ernährung am größten. Bei Peptonnahrung haben die Bakterien eine ausgezeichnete Stickstoffkost; überdies können die entstehenden Säuren, um die direkte Schädigung ihrerseits auszuschließen, in dem großen Gärapparat durch Calciumkarbonat neutralisiert werden. Die Wahrscheinlichkeit, daß das Metall von freier Säure gelöst wird, ist daher von vornherein gering. Die dennoch entstehenden Hg-Verbindungen finden Gelegenheit, schwerlösliche Körper mit den Eiweißstoffen der Nährlösung zu bilden. Ferner spricht zugunsten der Verwendung von Quecksilber die Theorie des Massenwirkungsgesetzes. Danach wird die Wirkung eines Salzes durch die Anwesenheit eines anderen Salzes mit gleichem Ion stark herabgesetzt. Die Wirkung des ersten Salzes kann auch gänzlich aufgehoben werden, indem dabei seine hydrolytische Spaltung ganz zurückgedrängt wird — ich erinnere an die Unmöglichkeit, Magnesiumverbindungen neben Ammonsalzen durch Ammoniak zu fällen. — In der von mir angewendeten Gärlösung waren die Anionen gleich, die Kationen verschieden (Hg, Ca). Hinzu kommt noch die relativ leichte Löslichkeit von Calciumformiat, -acetat und -laktat.

Betrachtet man also die Frage sowohl vom Standpunkt der elektrolytischen Dissoziationstheorie wie des Massenwirkungsgesetzes, so ergibt sich kein Umstand, der gegen die Verwendung von Quecksilber spricht. Nehmen wir dazu die Neutralisierung der entstehenden Säure, die Möglichkeit von Peptonquecksilberverbindungen, die fördernde Wirkung geringer Giftmengen, ferner die Tatsache, daß ein analytischer Nachweis von Metall in der Gärlösung selbst nach 4 Wochen nicht gelang und daß überhaupt die Gärung nach 6 Wochen und mehr noch nicht völlig sistiert war, so haben wir, wenn wir dieses zusammenfassen, einen Ueberfluß an Gründen, die für die Unschädlichkeit des Quecksilbers sprechen.

Selbstverständlich gilt dies zunächst nur für den erwähnten Fall und für ganz reines Metall. Ist es mit anderen Schwermetallen (Kupfer) verunreinigt, so können, wie Thiele und K. Wolf (30) für ähnliche Fälle experimentell nachwiesen, Schädigungen für die Bakterien entstehen. Die Verunreinigungen begünstigen katalytisch die Löslichkeit des Quecksilbers. Ein bekanntes Analogon haben wir in dem Verhalten von chemisch reinem Zink gegen Säuren. Werden andererseits die entstehenden Säuren nicht neutralisiert, so sind die schädlichen Einflüsse natürlich größer, bei festem Nährmedium aber geringer als bei Lösungen. Doch hängt der Grad der Löslichkeit des Quecksilbers sowie der schädigenden Kraft von der Zeit der Einwirkung ab. Die Gärdauer beschränkt

sich bei der zuletzt genannten Methode auf 1—2 Tage. Sollten dabei überhaupt stärkere Schädigungen auftreten, so dürften davon nur die absoluten Mengen der Stoffwechselprodukte getroffen werden. Daß verschiedene Gärungsenzyme in relativem Maße geschädigt werden, ist auch theoretisch denkbar, wird aber wohl praktisch belanglos bleiben.

Nach beiden angegebenen Methoden habe ich zahlreiche Versuche angestellt. Hier seien einige von den mit Bacterium coli sowohl in Mannit wie in Glukose ausgeführten Bestimmungen mitgeteilt und in der folgenden Tabelle (Tab. 16) zusammengestellt.

Tabelle 16.

Methode	Großer Gärapparat	Zuckeragarröhrchen	Großer Gärapparat	Zuckeragarröhrchen
Nährsubstrat	1200 ccm 0,5 Proz. Pepton	10 ccm Agar	1180 ccm 2,5 Proz. Pepton	ca. 10 ccm Zuckeragar
C-Quelle	1 Proz. Mannit	2,5 Proz. Mannit	2,5 Proz. Glukose	Glukose 2,5 bzw. 15 Proz.
Gärdauer	8 Wochen	1 Tag	10 Tage	1 Tag
Gasmenge	ca. $2^1/_2$ l	8—12 ccm	ca. 3 l	bei 5 Bestimmungen je 15 bis 20 ccm
Säure	neutralisiert mit $CaCO_3$	nicht neutralisiert	neutralisiert	nicht neutralisiert
Zahl der Bestimmungen	1	2	1	5
Verhältnis $H_2 : CO_2$	55,9 : 44,1 = 1 : 0,79	12,8 : 10,0 8,8 : 7,0 = 1 : 0,79	49,0 : 51,0 = 1 : 1,04	5mal 1 : 1

Die Gegenüberstellung beider Methoden hat das überaus befriedigende Resultat: Vollkommene Uebereinstimmung in dem Verhältnis $H_2 : CO_2$ bei Bacterium coli, sowohl für Glukose (1 : 1) wie für Mannit (1 : 0,79). Es zeigt sich also kein Unterschied, ob mit dem großen Gärapparat in Peptonwasserkulturen, oder mit wenig Zuckeragar nach der kleinen Methode gearbeitet wurde. Es ist einerlei, wie ich auch in anderen Versuchen feststellen konnte, ob die Gärung stürmisch verlief, so daß in fast einer Woche etwa 7 l Gas gebildet wurden, oder ob die Intensität gering und die Gasmenge nach vielen Wochen erst 2—3 l betrug, oder sich nach der modifizierten Burri-Düggelischen Methode zwischen 15—25 ccm bewegte. Mochte die Nährlösung in dem großen Apparat durch zugesetzten Kalk neutral gehalten werden, oder wurde die Säure in dem Agarröhrchen nicht gebunden, das Verhältnis $H_2 : CO_2$ zeigte sich in keiner Weise abhängig von der Menge, der Zusammensetzung und der Zuckerkonzentration der Nährlösung.

Daß sich bei so wechselvollen Bedingungen die Resultate genau gleichen, spricht einerseits für die auf Grund der Ueberlegung gefolgerte Exaktheit beider Methoden, die nun auch experimentell erwiesen; andererseits darf daraus geschlossen werden, daß das Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ bei dem verwendeten Coli-Stamm eine konstante Größe darstellt.

Selbst die Anwesenheit freier Säure, sowie ihre Neutralisation, üben keinen Einfluß darauf aus. Die Art und Zusammensetzung der verschiedenen Nährmedien scheint ebenfalls belanglos zu sein. Auch bei verschiedener Zuckerkonzentration ergab sich kein Unterschied in dem Verhältnis $H_2 : CO_2$.

Diese Befunde bieten also, soweit der Quotient $H_2 : CO_2$ in Betracht kommt, eine wesentliche Stütze für das Gesetz von der Konstanz der Art, mit dem die Resultate so vieler früherer Untersucher im schärfsten Widerspruch stehen.

Bei diesen liegt jedoch, das glaube ich im Vorstehenden klar gezeigt zu haben, ein verhängnisvoll gewordener schwerer Irrtum zugrunde.

Zum Schlusse seien noch einige Versuche mitgeteilt, die ich anstellte, um auf Grund eigener experimenteller Beobachtungen den Wert der verschiedenen Methoden, derer sich die Untersucher bisher bedienten, darzulegen.

Ich habe verschiedene andere Coli-Stämme mittels des gewöhnlichen Gärungskölbchens von Smith, des Gärapparates von Hofstädter, dessen sich Mendel bediente, und mit der alten Methode Burri-Düggeli, sowie mit der von Frieber modifizierten Agarröhrchen-Methode auf das Gasverhältnis in Glukose geprüft und zahlreiche Bestimmungen ausgeführt, von denen ich in Tabelle 17 nur einige zusammenstelle.

Tabelle 17.

Methode		Bact. coli I		Bact coli. II		Bact. coli III	
		1. Best.	2. Best.	1. Best.	2. Best.	1. Best.	2. Best.
1. Smith	$H_2 + CO_2$	1,8	2,7	1,9	2,0	2,1	3,0
	H_2	1,2	1,8	1,5	1,5	1,5	2,1
	CO_2	0,6	1,9	0,4	0,5	0,6	0,9
	$H_2 : CO_2$	= 2 : 1	= 2 : 1	= 3,8 : 1	= 3 : 1	= 2,5 : 1	= 2,3 : 1
		= 1 : **0,5**	= 1 : **0,5**	= 1 : **0,27**	= 1 : **0,33**	= 1 : **0,4**	= 1 : **0,44**
2. Burri-Düggeli	$H_2 + CO_2$	23,5		22,5		31,5	22,5
	H_2	18,5		13,2		21,5	16,5
	CO_2	5,0		9,3		10,0	6,0
	$H_2 : CO_2$	= 3,7 : 1		= 1,4 : 1		= 2,2 : 1	= 2,7 : 1
		= 1 : **0,27**		= 1 : **0,7**		= 1 : **0,46**	= 1 : **0,37**
3. Hofstädter-Mendel	$H_2 + CO_2$	133,2		102,6			
	H_2	94,6		74,8			
	CO_2	38,6		27,4			
	$H_2 + CO_2$	= 2,45 : 1		= 2,7 : 1			
		= 1 : **0,41**		= 1 : **0,37**			
4. Agarröhrchen nach Frieber	$H_2 + CO_2$	16,8	17,2	12,7	15,5	14,5	18,7
	H_2	9,2	9,3	6,6	8,1	8,2	10,5
	CO_2	7,6	7,9	6,1	7,4	6,3	8,2
	$H_2 : CO_2$	= 1,21 : 1	= 1,18 : 1	= 1,08 : 1	= 1,1 : 1	= 1,3 : 1	= 1,3 : 1
		= 1 : **0,83**	= 1 : **0,85**	= 1 : **0,92**	= 1 : **0,91**	= 1 : **0,77**	= 1 : **0,78**

Wie sich hierbei zeigt, bleibt bei den Methoden 1, 2, 3 (Smith-Burri-Düggeli, Hofstädter-Mendel) der CO_2-Gehalt des Gases hinter dem wirklichen Wert, wie er mit der von Frieber modifizierten Methode erhalten wurde, weit zurück. Diese zuletzt genannte Methode ergibt den höchsten Wert für CO_2 in dem Gasverhältnis $H_2 : CO_2$; daß dieser Wert der richtige ist, ist durch die Gegenüberstellung dieser Methode mit der anderen des Verfassers (Tab. 16) bewiesen.

Ferner möchte ich noch kurz auf die mit der Methode Hofstädter-Mendel für Bacterium coli I und II (Tab. 17, 3) erhaltenen Befunde eingehen und vor Augen führen, wie sich diese falschen Resultate experimentell erklären lassen.

Zunächst, um die fortschreitende Sättigung des Gärmediums mit CO_2 zu zeigen, habe ich die Gase, sobald immer etwa 20—30 ccm ge-

bildet waren, vollständig abgelassen und analysiert und diese Daten in Tabelle 18 wiedergegeben.

Tabelle 18.

	a) Bact. coli I					b) Bact. coli II					
	ccm H_2+CO_2	ccm H_2	ccm CO_2	Proz.	$H_2:CO_2$		ccm H_2+CO^2	ccm H_2	ccm CO_2	Proz.	$H_2:CO_2$
1	20,8	17,8	3,0	85,6 : 14,4	1 : **0,17**	1	25,0	19,8	5,2	79,2 : 20,8	1 : **0,26**
2	37,4	29,8	7,6	79,7 : 20,3	1 : **0,26**	2	31,8	25,2	6,6	79,3 : 20,7	1 : **0,26**
3	27,6	18,2	9,4	66,0 : 34,0	1 : **0,52**	3	18,0	13,4	4,6	74,4 : 25,6	1 : **0,34**
4	30,2	18,6	11,6	61,6 : 38,4	1 : **0,62**	4	27,8	16,4	11,4	59,0 : 41,0	1 : **0,70**
5	17,2	10,2	7,0	59,3 : 40,7	1 : **0,69**		102,6	74,8	27,8		
	133,2	94,6	38,6								
	$H_2:CO_2 = 94,6:38,6 = 2,45:1$ $= 1:\mathbf{0,41}$						$H_2:CO_2 = 74,8:27,8 = 2,7:1$ $= 1:\mathbf{0,37}$				

Ueberraschend deutlich tritt hier das Ansteigen des CO_2-Gehalts zutage. Für Bact. coli I (Tab. 18a) von 14,4 Proz. bis 40,7 Proz., oder $H_2:CO_2$ von 1 : 0,17 bis 1 : 0,69. Bei Bact. coli II (Tab. 18b) von 20,8 Proz. bis 41,0 Proz., oder $H_2:CO_2$ von 1 : 0,26 bis 1 : 0,70.

Um nun die Menge der absorbierten Gase festzustellen und zu beweisen, daß kein anderes Moment als die CO_2-Absorption das Ergebnis so beeinträchtigte, brachte ich den Inhalt der beiden Hofstädterschen Apparate in je einen meiner großen Gärapparate. Diese waren mit Wasser gefüllt und durch Auskochen von Gasen befreit. Sodann wurde ein entsprechendes Wasservolumen durch den Inhalt des Hofstädterschen Apparates ersetzt, dann im Dampftopf ausgekocht und das Gas abgelassen und dieses Verfahren dreimal wiederholt. Auf diese Weise erhielt ich eine beträchtliche Menge Gas, das fast nur aus CO_2 bestand. Diese Menge absorbierter CO_2 betrug für Bact. coli I = 40,0 ccm, für Bact. coli II = 37,3 ccm.

Wird diese Menge berücksichtigt, so ergibt sich ein Gasverhältnis $H_2:CO_2$, wie ich es nach meiner modifizierten Methode fand (Tab. 19).

Tabelle 19.

Das Gasverhältnis ist für	a. Bact. coli I $H_2:CO_2$	b. Bact. coli II $H_2:CO_2$
1) Ohne Berücksichtigung der absorbierten CO_2-Menge:	$= 94,6:38,6$ $= 1:\mathbf{0,41}$	$= 74,8:27,8$ $= 1:\mathbf{0,37}$
2) Mit Berücksichtigung derselben:	$= 94,6:(38,6+40,0)$ $= 1:\mathbf{0,83}$	$= 74,8:(27,8+37,3)$ $= 1:\mathbf{0,87}$
3) Nach der Methode Frieber	$= 1:\mathbf{0,84}$	$= 1:\mathbf{0,91}$

Das Wesentliche vorliegender Arbeit fasse ich kurz zusammen:

In der Gasabsorption liegt eine schwere Fehlerquelle verborgen, die bisher weder erkannt noch beachtet wurde und daher zu den verhängnisvollsten Irrtümern geführt hat. Solange ihr nicht gebührend Rechnung getragen wird, ist es nicht gerechtfertigt, die ganz enorm schwankenden, teils sich sehr widersprechenden Angaben in der Literatur über das Gasverhältnis $H_2:CO_2$ bei Bacterium coli commune in Glukose, ganz allgemein aber auch bei allen anderen, aus Kohlehydraten Gase bildenden Bakterien mit „Rassenunterschieden", „unerforschten physiologischen Vorgängen", „Anpassung", „Standortsvarietäten" usw. zu

erklären. Derartige Versuche müssen als verfrüht und zum Teil falsch bezeichnet werden. Das Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ ist meines Erachtens für den gleichen Bakterienstamm eine konstante Größe. Unterschiede zwischen verschiedenen Stämmen treten auf, werden sich aber bei Vermeidung der bisherigen Untersuchungsfehler aller Wahrscheinlichkeit nach in engen Grenzen bewegen.

Wird in Anerkennung der Tatsache von der Bedeutung der Gasabsorption das nunmehr in exakter Weise zu gewinnende Material sich gemehrt haben, dann muß es sich zeigen, ob und inwieweit es berechtigt ist, das Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ als Differential-Diagnostikum heranzuziehen.

Ein großes Gebiet harrt hier der Neubearbeitung auf exakter Grundlage. Möge die vorliegende Arbeit dazu den Weg weisen!

Nachtrag.

Nach dem Lesen der Korrekturen erschien eine Arbeit von B. Henningsson (32), auf die ich noch kurz eingehen möchte. Sie bietet einen neuen Beitrag dafür, wie die Gasabsorption auch hier, da sie unerkannt geblieben, bis auf diesen Tag ihr verstecktes und darum um so verderblicheres Spiel getrieben hat.

Bei seinen Untersuchungen über die Veränderlichkeit des Gasbildungsvermögens von Bacterium coli bediente sich Henningsson eines von ihm angegebenen neuen Gärapparates, der aber im Prinzip auf das Smithsche Kölbchen hinausläuft. Aus diesem Grunde dürfen wir in bezug auf exakte Gasbestimmungen nicht mehr erwarten als von den Smithschen Kölbchen, dem Hofstädterschen Apparat oder der Methode Burri-Düggeli. Wir werden daher bei den von Henningsson mitgeteilten Angaben über das Gasverhältnis von Bacterium coli in Glukose den gleichen Zusammenhang zwischen Gaszusammensetzung und Gasmenge erwarten können, wie er uns oben so oft begegnet ist. Tabelle 20 bestätigt dies.

Tabelle 20.

Bei Henningsson, Tabelle IV, Stamm Nr.	ccm $H_2 + CO_2$	$H_2 : CO_2$	$H_2 : CO_2$
12	**6,7**	5,9 : 1	1 : **0,17**
11	**6,9**	5,1 : 1	1 : **0,32**
6	**11,6**	2,7 : 1	1 : **0,37**
5	**13,9**	2,4 : 1	1 : **0,42**
2	**17,8**	2,2 : 1	1 : **0,46**
1	über **21,0**	1,0 : 1	1 : **1,0**

Zwischen diesen 6 verschiedenen Stämmen besteht also gar kein Unterschied, sondern es tritt mit auffallender Deutlichkeit nur wieder der Parallelismus zwischen CO_2-Gehalt des Gases und seiner Menge zutage.

Ferner erkennen wir hinter folgender Angabe Henningssons sofort die Gasabsorption. Loc. cit. p. 267 heisst es bezüglich der Traubenzuckervergärung durch Bacterium coli: „Nach einem erreichten Säuregrad von ungefähr 8 ccm $^n/_{10}$ NaOH auf 100 ccm Gärungsflüssigkeit beginnt die gebildete Gasmenge meßbar zu werden. Danach wachsen Gasmenge und Azidität ungefähr gleichzeitig — erstere jedoch weit stärker und rascher als letztere — und erreichen ihr Maximum nach 24—48 Stunden. Nachdem die Maxima erreicht worden, wird eine unbedeutende Menge Gas absorbiert, während der Säuregrad unverändert

bleibt." Dafür läßt sich meines Erachtens überhaupt keine bessere und so naheliegende Erklärung finden, als die leichte Absorbierbarkeit des Kohlendioxyds.

Auf Grund einer fehlerhaften Methodik muß natürlich auch Henningsson gleich allen anderen Untersuchern zu falschen Vorstellungen über das Gasverhältnis $H_2 : CO_2$ kommen. Dieses ist nach seinen mit 40 Faeces-Coli-Stämmen ausgeführten Bestimmungen $H_2 : CO_2 = 2{,}2$ —3,5 : 1. Nur in zwei Fällen findet er $H_2 : CO_2 = 1 : 1-1{,}7$.

Es kann uns demnach nicht verwundern, wenn Henningsson schreibt: „Im allgemeinen scheint bei dem wirklichen Darm-Coli die H_2-Menge sich zur CO_2-Menge wie 2—3 : 1 zu verhalten. Doch sollen auch Stämme vorkommen, bei denen dieses Verhältnis = 1 : 1 ist. ..... im allgemeinen scheint aber eine Abneigung zu bestehen, ein Coli, das ebensoviel CO_2-Gas wie H_2-Gas liefert, zu den wirklichen Darm-Coli zu rechnen." (!)

Wenn ich oben an Hand der von Howe in Tabelle 8 wiedergegebenen Resultate den Bakterienstämmen mit hohem CO_2-Gehalt ein außergewöhnlich kräftiges Gärvermögen zuschrieb, so finden wir hier dafür in einer anderen Angabe Henningssons eine, wenn auch nicht unbedingt notwendige Stütze, so doch willkommene Bestätigung, zumal Henningsson die Bedeutung der Gasabsorption völlig unbekannt ist. Henningsson schreibt bezüglich des ihm abnorm scheinenden Verhaltens der zwei Coli-Stämme mit dem Verhältnis $H_2 : CO_2 = 1 : 1$ —1,7 folgendes: „Diese Stämme hatten auch zum Unterschied von allen anderen die Eigentümlichkeit, eine so große Menge Gas zu bilden, daß sie nicht mit dem verwendeten Gärungskolben gemessen werden konnte, d. h. eine Gasmenge, größer als 21 ccm." Daß hier das Verhältnis des gebildeten Gases zum Volumen der Gärflüssigkeit sehr groß ist und daß daher der durch Absorption entstehende Verlust an CO_2 gegenüber der Gesamtgasmenge und der übrig bleibenden CO_2-Menge klein wird, darauf kommt Henningsson nicht.

Uebrigens scheint mir das Verhältnis $H_2 : CO_2 = 1 : 1{,}7$ bei Bacterium coli doch etwas zu sehr zu ungunsten des Wasserstoffs zu sein. Ich halte trotz allen bisherigen Literaturangaben für Bacterium coli in Glukose ein Gasgemisch, welches zu etwa gleichen Teilen aus Wasserstoff und Kohlendioxyd besteht, so daß also das Verhältnis $H_2 : CO_2$ nicht zu sehr von 1 : 1 abweicht, für das Wahrscheinliche.

Hierzu bedürfen wir jedoch noch zahlreicher, exakter experimenteller Bestätigungen.

Literatur.

1) Lembke, W., Beitrag zur Bakterienflora des Darms. (Arch. f. Hyg. Bd. 26. 1896 p. 293.)
2) Mendel, Joh., Ueber Umsetzung verschiedener Zuckerarten durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 29. 1911. p. 289.)
3) Wolff, A., Zur Kenntnis der Veränderungen in der Bakterienflora der frischen Milch während des sogenannten Inkubationsstadiums. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 20. 1908. p. 762.)
4) Burri u. Düggeli, Beiträge zur Systematik der Coli aërogenes-Gruppe, nebst Beschreibung einer neuen Methode zur Untersuchung der Gärungsgase. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. p. 145.)
5) Fuhrmann, F., Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbiers. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 19. p. 227.)
6) Escherich-Pfaundler, in Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Jena 1903. Bd. 2. p. 354.
7) Lehmann, K. B. u. Neumann, R. O., Grundriß der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. T. II. München 1912. p. 373.

8) Wolffin, A., Bakteriologische und chemische Untersuchungen über Sauerteiggärung. [Dissert.] Würzburg 1894; (cf. Arch. f. Hyg. Bd. 21. 1894. p. 29.)
9) Holliger, W., Bakteriologische Untersuchungen über Mehlteiggärung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 9. 1902. p. 399.)
10) Levy, F., Hygienische Untersuchungen über Mehl und Brot. Beiträge zur Bakteriologie der Mehlteig- und Sauerteiggärung. (Arch. f. Hyg. Bd. 49. 1904. p. 62.)
11) Pammel, L. u. E., A contribution on the gases produced by certain bacteria. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 2. 1896. p. 633.)
12) Howe, Freeland jr., Notes on the Bacillus coli. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1904. p. 484.)
13) Harden, Arthur, The Fermentation of Sugars by Bacillus coli communis and allied organisms. (Transact. of the Jenner Inst. of prevent. Med. Ser. II. 1899. p. 126.)
14) Keyes, F., The Gas production of Bacillus coli. (Journ. of med. Research. Vol. 21. 1909. p. 69; refer. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 45. 1910. p. 248.)
15) Conrad, E., Bakteriologische und chemische Studien über Sauerkrautgärung. (Arch. f. Hyg. Bd. 29. 1897. p. 56.)
16) Botkin, L., Ueber einen Bacillus butyricus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1892. p. 421.)
17) Gärtner, Ein neuer gasbildender Bacillus. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 15. 1894. p. 1.)
18) Pakes u. Jollyman, The Bacterial Decomposition of Formic Acid into Carbon Dioxide and Hydrogen. (Journ. of the Chem. Soc. of London. Transact. Vol. 79. 1901. p. 386.)
19) Stamm, J., Ueber die Bedeutung des von einigen pathogenen Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe unter anaëroben Bedingungen produzierten Gases für die Differentialdiagnose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1906. p. 590.)
20) Salus, G., Zur Biologie der Fäulnis. (Arch. f. Hyg. Bd. 51. 1904. p. 97.)
21) Fremlin, Vergleichende Studien an Bacterium coli commune verschiedener Provenienz. (Arch. f. Hyg. Bd. 19. 1893. p. 295.)
22) Smith, Th., The Fermentationtube with special reference to anaërobiosis and gas production among bacteria. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 14. 1893. p. 864.)
23) Holstädter, E., Ein neuer Apparat zur Ansammlung von Gärungsgasen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 13. 1904. p. 765.)
24) Frieber, W., Eine Modifikation der Untersuchungsmethode von Gärungsgasen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 36. 1913. p. 438.)
25) Heim, L., Lehrbuch der Bakteriologie. 4. Aufl. 1911. p. 194.
26) Landolt-Börnstein, Physikalisch-chemische Tabellen. 3. Aufl. 1905. p. 599.
27) Pakes a. Jollyman, The Collection and Examination of the Gases produced by Bacteria from certain Media. (Journ. of the Chem. Soc. Transact. Vol. 79. 1901. p. 322.)
28) Smith, Th., Ueber die Bedeutung des Zuckers in Kulturmedien für Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 18. 1895. p. 1.)
29) Frieber, W., Ueber Bakteriengärungen und ihre gesamte Methodik. [Dissert.] Tübingen 1913.
30) Thiele u. Wolf, Kurt, Ueber die bakterienschädigenden Einwirkungen der Metalle. (Arch. f. Hyg. Bd. 34. 1899. p. 43.)
31) Thaysen, A. C., Funktionelle Anpassung bei Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. p. 1.)
32) Henningsson, B., Eine neue Methode zur Beurteilung der fäkalen Verunreinigung eines Wassers, gegründet auf die Veränderlichkeit des Gasbildungsvermögens von Bacterium coli. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 74. 1913. p. 253.)

Inhalt.

Aumann, Erfahrungen bei einigen in das Hamburger Staatsgebiet eingeschleppten Fällen von menschlicher Pesterkrankung, p. 353.
Dold, H. u. **Rothacker, A.,** Experimentelle Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen im Samen tuberkulöser Menschen, p. 379.
Frieber, Walther, Die Bedeutung der Gasabsorption in der Bakteriologie, p. 437.
Nauwerck, C., Nochmals die „Durchbohrung des Duodenums und des Pankreas durch eine Tänie", p. 434.
Schilling-Torgau, V., Ueber die feinere Morphologie der Kurloff-Körper und ihre Aehnlichkeit mit Chlamydozoen-Einschlüssen. II., p. 412.
Toenniessen, Erich, Ueber Wesen und Ursache der Mutation bei Bakterien, p. 391.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 69. Heft 7.
Ausgegeben am 3. Juli 1913.

Nachdruck verboten.

Ueber Spezifizität und andere Eigenschaften der Ektoproteasen.

Von Prof. Dr. **Claudio Fermi,**
Vorstand des K. Hygienischen Institutes der Universität Sassari.

VI. Ontogenetische Erscheinungsfolge der einzelnen proteolytischen Vermögen.

Wären die einzelnen glutino-, fibrino-, kaseinolytischen Wirkungen usw. von eben so vielen selbständigen Enzymen entfaltet, so dürfte bei der Embryoentwicklung die albumo- oder serolytische ab und zu vor der fibrino-, resp. kaseino- oder glutinolytischen Protease zutage treten.

Schon aus älteren eigenen Untersuchungen[1]) ergab sich, daß die Glutinase des Pankreas- und Darmsaftes beim menschlichen Embryo vor dem fibrinolytischen Vermögen, und zwar bei 18 cm langen Keimen, erscheint. Durch spätere unter Mitarbeit von Repetto[2]) ausgeführte Versuche wurde festgestellt, daß im Pankreas- und Darmsafte der Ochsen-, Schweine- und Hundeembryonen das glutinolytische von dem fibrinolytischen Vermögen erscheint.

Diese Beobachtungen stimmen mit denen anderer Autoren überein, vor allem mit denen von Langendorff[3]), welcher kein fibrinolytisches Enzym vor dem 5.—6. Monate im Menschenembryo, bei Schweineembryonen aber erst bei einer Länge von 13—15 cm, bei Ochsen von 25 cm, bei Kaninchen von 6,3—6,7 cm auffand, während ich ein gelatineverflüssigendes Enzym bedeutend früher, und zwar bei denselben Tieren schon bei einer Länge von 12, resp. 15, resp. 2—5 cm erkennen konnte.

Um diese Frage weiter zu beleuchten, habe ich derartige Versuche am Pankreas und der Magenschleimhaut verschiedener Tiere wiederholt.

Untersuchungsmethode: Wässerige Auszüge aus den genannten Organen von Embryonen wurden mit 1-proz. Essigsäure angesäuert, um die Aktivierung des Trypsinpymogens zu beschleunigen und auf Gelatine, Fibrin, Kasein, Blutserum und Eiweiß geprüft. Nach 10 Tagen wurden folgende Wirkungen festgestellt (s. Tabelle 1).

Ergebnisse. 1) In der Bauchspeicheldrüse und der Magenschleimhaut der Menschen-, Schweine-, Hunde-, Schaf- und Ochsenembryonen erscheint zuerst das gelatinolytische, dann das fibrino- und kaseinolytische, zuletzt, und zwar nach der Geburt, das sero- und albumolytische Vermögen.

2) eine Glutinase tritt im Pankreas bei einer Keimlänge von 18 cm bei Menschen, 12 cm bei Schweinen, 13,5 cm bei Hunden, 31 cm bei Schafen, 15 cm bei Ochsen, 6—7 cm bei Kaninchen auf.

3) Fibrino- und kaseinolytische Eigenschaften erscheinen im Pankreas der Embryonen bei Menschen im Alter von 4—6 Monaten, bei Schweinen

1) Fermi, Cl., Arch. per le scienze med. 1892.
2) Fermi, Cl. u. Repetto R., Lo Sperimentale. Vol. 56. 1902. H. 1.
3) Langendorff, O., Arch. f. Physiol. 1879. p. 65—112; vgl. Preyer, Physiologie spéciale de l'embryon.

bei einer Länge von 35 cm, bei Hunden von 13,5 cm, bei Schafen von 31 cm, bei Ochsen von 35 cm, bei Kaninchen von 6—8 cm.

Tabelle 1.

Embryonen	Länge[1]) oder Alter	Gelatine	Fibrin	Kasein	Blutserum	Eiweiß
	1. Pankreas.					
Mensch	18 cm	+	—	—	0	0
	4 Monate	+	+	—	0	0
	6 „	+	+	+	0	0
Schwein	12 cm	+	—	—	0	0
	13 „	+	—	—	0	0
	35 „	+	—	—	0	0
Hund	13,5 „	+	—	—	0	0
Schaf	31 „	+	—	—	0	0
	34 „	+	+	—	0	0
Ochs	15 „	+	0	0	0	0
	25 „	+	0	0	0	0
	30 „	+	—	—	0	0
	35 „	+	—	—	0	0
	50 Tage	+	0	0	0	0
	2 Monate	+	0	0	0	0
	3 „	+	0	0	0	0
	4 „	+	—	—	0	0
	7 „	+	+	+	0	0
Kaninchen	4—5 cm	+	—	—	0	0
	6—7 „	+	—	0	0	0
	2. Magenschleimhaut.					
Mensch	5—6Monate	.	—	—	0	0
Hund	—	.	0	0	0	0
Katze	—	.	0	0	0	0
Schwein	17—20 cm	.	+	+	0	0
Schaf	19 „	.	—	—	0	0
Ochs	17 „	.	—	—	0	0
	3 Monate	.	—	—	0	0
Kaninchen	—	+	+	+	0	0
Ratte	4—5 cm	+	—	—	0	0

Ein kaseino- und fibrinolytisches Enzym trat in der Magenschleimhaut bei menschlichen Embryonen erst im 5.—6. Monate, bei Schweinen erst bei einer Länge von 17—20 cm, bei Schafen von 19 cm, bei

Tabelle 2.

	Nach 1 Tage			Nach 2 Tagen		
	Phenol	Thymol	Toluol	Phenol	Thymol	Toluol
Fäulnisgemisch						
1. Versuch	2—3	3—4	2—2	3—3	2—3	0—0
2. „	2—3	2—3	2—2	3—3	4—3	0—0
V. Finkler-Prior						
1. Versuch	3—4	4—4	2—3	14—15	14—14	15—15
2. „	3—4	3—4	3—4	13—14	13—13	16—16
B. prodigiosum						
1. Versuch	2—1	2—1	3—1,5	11—11	11—11	11—11
2. „	3—1	1—3	3—1	11—11,5	11—11	12—11,5
B. pyocyaneum						
1. Versuch	1—2	2—1,5	2—2	8—8	9—8	10—8
2. „	1,5—1	2—1	2—2	8—7	9—7	9—9

1) Vom Kopfscheitel zum After gemessen.

Ochsen von 17 cm, bei Kaninchen von 6—7 cm, bei Ratten von 4—5 cm auf.

Sero- und albumolytische Eigenschaften treten beinahe immer, bei Hunden und Katzen sicherlich immer erst nach der Geburt auf.

Bemerkenswert ist, daß tierische Eiweißstoffe angreifende Proteasen bei einigen pflanzenfressenden Tieren früher als bei Fleischfressern auftreten.

VII. Ausscheidungsfolge der verschiedenen proteolytischen Enzyme bei Mikroben.

Zur Erforschung der Frage, ob albumo- und serolytisches Enzym von Mikroben früher als das kaseino-, fibrino- oder glutinolytisches Enzym ausgeschieden wird, stellte ich folgende Versuche an:

Kulturgläser wurden mit Bouillon und Würfelchen von Eiweiß, Blutserum, Kasein und Fibrin beschickt, dann mit einem Fäulnisgemisch, resp. mit Vibrio Finkler-Prior, Bact. prodigiosum, B. pyocyaneum geimpft und bei 30° C gebrütet. Nach 1, 2, 3, 4, 5 und 10 Tagen wurde die Lebenstätigkeit der Bakterien mittels 1 Proz. Phenol oder 2 Prom. Thymol oder Toluol unterdrückt und die einzelnen Enzymwirkungen auf erneute Würfelchen der genannten Eiweißstoffe und auf Gelatine im Röhrchen geprüft.

In der folgenden Tabelle habe ich die Messungen der Gelatineverflüssigung in Millimeter zusammengestellt (Tabelle 2).

Die ein- und zweitägigen Kulturflüssigkeiten waren auf die übrigen Eiweißstoffe unwirksam. Bei drei- und mehrtägigen Kulturen wurden folgende Wirkungen beobachtet.

Ergebnisse. 1) In keinem Falle erschien die albumo- und serolytische vor der kaseino-, fibrino- und glutinolytischen Fähigkeit. Waren das albumo- und serolytische Enzym vorhanden, so traten auch die übrigen daneben auf.

2) Am 1. und 2. Kulturtage konnte die glutinolytische Fähigkeit, aber keine der übrigen nachgewiesen werden; am 3. Tage traten auch das fibrino- und kaseinolytische Vermögen, aber erst vom 5. Tage an die höheren Enzyme, d. h. die sero- und albumolytische Wirkung, auf.

3) Die Gegenwart des glutinolytischen Enzymes allein erklärt sich durch die schwache Wirksamkeit oder Verdünnung des Enzyms selbst.

Daraus folgere ich nochmals, daß proteolytische Enzyme mehrwertig, d. h. nicht spezifisch sind.

Tabelle 2.

Nach 3 Tagen			Nach 5 Tagen			Nach 10 Tagen		
Phenol	Thymol	Toluol	Phenol	Thymol	Toluol	Phenol	Thymol	Toluol
4—4	4—4	3—4	2—2	1—4	6—9	27—2	0,5—0,5	5—5
3—5	3,5	3—3,5	2—2	3,5—4	6—3	2—2	3—3	6—5,5
10—10	10—10	12—13	13	10—13	12—12	18	16—8	10—16
9—9	9—10	12—13	19	19—12	13—12	18	17—17	16—17
9—10	8—7,5	9—10	9—11	11—12	11,5—12,5	9—10,5	11—12	10,5—13
9—10	9—8	9,5—10	11—13	11,5—13	12—11	12—13	11—12,5	12—14
6—6	8—8	9—9	9—9	10—10	10—10	7—7	10—10	10—10
6—6	7—7	8—8	8—8	9—9	9—8	7—7	9—8	10—10

4) Nebenbei wurde bemerkt, daß Phenol die proteolytischen Enzyme viel schneller als Thymol schädigt. Diese Schädigung betraf die albumo-, sero-, fibrino- und kaseinolytische viel mehr als die glutinolytische Fähigkeit, vielleicht setzte Phenol die Verdaulichkeit von Eiweiß, Blutserum, Kasein und Fibrin mehr als von Gelatine herab.

Tabelle 3.

	3-tägige Kulturen						5-tägige Kulturen						10-tägige Kulturen					
	Phenol		Thymol		Toluol		Phenol		Thymol		Toluol		Phenol		Thymol		Toluol	
	Fibrin	Kasein	Fibrin	Kasein	Fibrin	Kasein	Fibrin	Kasein	Fibrin	Kasein	Fibrin	Kasein	Fibrin	Kasein	Fibrin	Kasein	Fibrin	Kasein
Fäulnisgemisch																		
1. Versuch	0	0	0	0	0	0	—	—	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+
2. „	0	0	0	0	0	0	—	—	—	+	+	+	—	—	+	+	+	+
V. Finkler-Prior																		
1. Versuch	0	0	—	—	0	0	—	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+
2. „	0	0	—	—	0	0	—	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+
B. prodigiosum																		
1. Versuch	0	0	0	0	0	0	0	0	—	+	+	0	0	0	+	+	—	+
2. „	0	0	0	0	0	0	0	0	+	—	+	—	0	0	—	+	—	+
B. pyocyaneum																		
1. Versuch	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+
2. „	0	0	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+

Tabelle 4.

	Serum	Eiweiß	Serum	Eiweiß	Serum	Eiweiß	Serum	Eiweiß	Serum	Eiweiß	Serum	Eiweiß	Serum	Eiweiß	Serum	Eiweiß	Serum	Eiweiß
Fäulnisgemisch																		
1. Versuch	0	0	0	0	0	0	?	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
2. „	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	0	+	+
V. Finkler-Prior																		
1. Versuch	0	0	0	0	+	0	?	—	—	—	—	—	0	0	—	—	+	+
2. „	0	0	0	0	0	0	?	—	—	—	—	+	0	0	+	—	+	+
B. prodigiosum																		
1. Versuch	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. „	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B. pyocyaneum																		
1. Versuch	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	0	0	0	0	0	0	0	0
2. „	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

VIII. Aktivierungsfolge der einzelnen proteolytischen Proenzyme.

Waren proteolytische Sekrete ein Gemisch mehrerer einwertiger Enzyme, so konnte die Aktivierung der einzelnen Zymogene in zeitlich getrennten Stufen, etwa des albumo- und serolytischen vor dem fibrino- und glutinolytischen Proenzym, stattfinden. Obwohl diesbezügliche Versuche bis dahin nicht ausgeführt wurden, so sprechen doch die spärlichen Beobachtungen gegen diese Möglichkeit. So fanden Heidenhain, Weiss und Podolinsky, daß frischer Pankreas auf Fibrin, Kasein, Eiweiß usw. nicht einwirkt, während ich bei ganz frischem Ochsen-, Gänse- und Taubenpankreas eine sehr starke Wirkung auf Gelatine neben der Unwirksamkeit für Fibrin fand [1]).

1) Fermi, Cl., La gelatina come reagente usw. (Arch. p. l. scienze med. Vol. 16. p. 169.)

Auch im Fermentbuch von Oppenheimer wird (p. 210) der ganz frische und reine Pankreassaft für Eiweiß als unwirksam, für Fibrin und Kasein als schwach wirksam angegeben. Um diese Frage zu klären, stellte ich folgende Versuche an:

Untersuchungsmethode: Man bereitete mit dem ganz frischen Pankreas des soeben geschlachteten Tieres eine Emulsion von 20 g in 50-proz. Glyzerin, 20-proz. Alkohol, 9-proz. Kochsalz. Nach 5 Tagen wurde filtriert und die einzelnen Filtrate auf die 5 Eiweißkörper geprüft. Um die Aktivierung der Partialzymogene während der Einwirkung zu verlangsamen, wurde der Sauerstoff durch Aufgießen von 2 ccm Paraffinöl abgeschlossen, dabei wurden auch Kontrollproben ohne diesen Abschluß angestellt. Nach 5 und 10 Tagen wurden die Resultate verzeichnet. Allerdings blieben die angewandten Filtrate auf Serum und Eiweiß unwirksam.

Tabelle 5.

Emulsion mit	Pankreas von	Nach 5 Tagen						Nach 10 Tagen					
		Gelatine		Fibrin		Kasein		Gelatine		Fibrin		Kasein	
		mit Oel	ohne Oel	mit Oel	ohne Oel	mit Oel	ohne Oel	mit Oel	ohne Oel	mit Oel	ohne Oel	mit Oel	ohne Oel
		mm						mm	mm				
50-proz. Glyzerin	Schwein	14	0	0	0	0	0	38	38	+	+	0	0
	Pferd	17	0	0	—	—	.	.	0	+	0	0	
	Ochsen	11	0	0	0	0	.	.	0	+	0	0	
	Ziege	9	0	0	0	0	.	.	+	+	0	0	
25-proz. Alkohol	Schwein	14	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	
	Pferd	14	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	
	Ochsen	10	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	
	Ziege	10	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	
9-proz. Kochsalzlös.	Schwein	14,5	—	—	+	+	.	.	+	+	+	+	
	Pferd	18	0	0	—	—	.	.	0	+	0	0	
	Ochsen	10	0	0	0	0	.	.	—	+	0	0	
	Ziege	11	0	0	+	+	.	.	+	+	0	0	

Ergebnisse. 1) Bei der Aktivierung des Protrypsins erscheint immer zunächst das glutinolytische, darauf das fibrino- und kaseinolytische, zuletzt das sero- und albumolytische Vermögen.

2) Bei Sauerstoffabschluß war Pankreassaft wenigstens für Fibrin weniger wirksam.

3) Die 25-proz. Alkohol enthaltenden Pankreasextrakte waren nur auf Gelatine wirksam; die Pankreassalzlösung war am wirksamsten.

4) Stärker war die proteolytische Tätigkeit bei Pferde- und Schweinepankreas, schwächer die von Ochsen- und Ziegenpankreas.

IX. Verhalten der einzelnen proteolytischen Tätigkeiten gegen Licht und Wärme.

Ist es möglich, mittelst physikalischer Agentien das albumo-, sero-, fibrinolytische Vermögen unter Schonung des glutinolytischen oder das albumo- und serolytische bei Erhaltung des kaseino- und fibrinolytischen zu zerstören?

Versuche in dieser Richtung wurden mit Trypsin, Pepsin und Bakterienzymen ausgeführt.

1. Versuche mit Trypsin.

Schon 1892 habe ich das fibrinolytische Vermögen des Trypsins unter Erhaltung des gelatinolytischen zu vernichten versucht. Ich schrieb damals: „Erwärmt man eine Stunde lang Trypsin auf 50° C, so löst es

Fibrin nicht mehr, wohl aber Gelatine noch auf; nach Erwärmung auf 60° C wirkt es auf Gelatine nicht mehr.

Eine neutrale, wässerige, bei Zimmertemperatur erhaltene Trypsinlösung löst Fibrin nach 4—5 Tagen nicht mehr, wohl aber Gelatine auf; erst einige Tage später wird sie auch für Gelatine unwirksam."

Um die Frage nach der Identität des gelatine- und kaseinolytischen Enzyms im Trypsin zu lösen, verfuhr ich in folgender Weise:

Versuch 1. 10-proz. und 1-promill. Trypsinlösungen wurden auf 35—40° C 24, 48, 72, 96 und 120 Stunden lang erwärmt, dann 1 ccm auf 5-proz. Gelatine im Röhrchen gegossen und bei 20° C neben unerwärmten Kontrollproben gehalten. Andererseits wurden in diese Trypsinlösungen 2 × 3 mm große Würfelchen von Kaseinpräparaten aus Fontina und Gruyèrekäse gelegt.

Bei Erwärmung auf 35—40° C verloren die Trypsinlösungen das kaseino-, aber nicht das gelatinolytische Vermögen, obwohl das letztere auf die Hälfte sank. Unerwärmtes Trypsin löste auch Kasein, und zwar die 1-proz. Lösung in 24, die 1-proz. Lösung in 48 Stunden auf.

Versuch 2. Probiergläser mit je 20 ccm einer 1 Prom. Trypsin und 1 Proz. Phenol enthaltenden Lösung wurden im Wasserbade auf 45—50° C verschieden lange Zeit erwärmt. Je 5 ccm wurden dann auf je zwei, 10 × 3 mm große Würfelchen von Eiweiß, Serum und Kasein wirken gelassen. Die Kontrollproben erhielten unerwärmtes Trypsin. Die Proben standen bei 30° C. Nach 2 und 12 Tagen wurden die Resultate verzeichnet:

Tabelle 6.

Eiweißkörper	45° C						50° C								Kontrolle	
	30'		60'		90'		15'		30'		45'		60'			
	nach 2 Tagen	nach 12 Tagen	nach 2 Tagen	nach 12 Tagen	nach 2 Tagen	nach 12 Tagen	nach 2 Tagen	nach 12 Tagen	nach 2 Tagen	nach 12 Tagen	nach 2 Tagen	nach 12 Tagen	nach 2 Tagen	nach 12 Tagen	nach 2 Tagen	nach 12 Tagen
Gelatine	+	+	?	+	−	+	+	+	+	+	−	+	−	+	+	+
Fibrin	−	+	0	+	0	0	−	+	−	+	−	+	0	0	+	+
Kasein	−	+	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+
Serumeiweiß	−	+	0	+	0	0	0	+	0	−	0	−	0	0	+	+
Eiweiß	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	−	−

Die Erwärmung auf 45—50° C während 15, 30, 45, 60, 90 Stunden zerstörte das gelatinolytische Vermögen des Trypsins ebenso leicht wie das fibrino-, kaseino-, sero- und albumolytische Vermögen oder das fibrino- und kaseino- ebenso leicht wie das sero- und albumolytische Vermögen.

2. Versuche mit Trypsin und Papain.

Beide Enzyme wurden auf 50—60° erwärmt, dann mit gleicher Menge 1-proz. Phenollösung gemischt und auf 1 ccm 1-proz. Gelatine im Röhrchen geschichtet oder auf frische Fibrinflocken wirken gelassen. Der Versuch dauerte 10 Tage.

Einstündige Erwärmung auf 50—60 Stunden lange Einwirkung des direkten Sonnenlichtes zerstörten im gleichen Umfang das gelatino- wie das fibrinolytische Vermögen des Trypsins und Papains.

3. Versuche mit Pepsin.

Versuch 1. 1 g Pepsin Merck wurde in einem Liter 2-promill. Salzsäure gelöst, dann je 20 ccm in Reagenzgläser verteilt und während 35, 45, 60 und 75 Minuten auf 60—65° C im Wasserbade erwärmt. Sodann

ließ ich je 10 ccm auf Fibrinflocken und Würfelchen der übrigen Eiweißkörper einwirken. Nach 48-stündigem Verweilen bei 30° C wurden folgende Wirkungen beobachtet.

Tabelle 7.

	60° C				65° C		
Eiweißkörper	30 Min.	45 Min.	60 Min.	75 Min.	30 Min.	45 Min.	75 Min.
Fibrin	+	+	+	+	+	+	+
Kasein	+	+	0	0	0	0	0
Serum	—	—	0	0	0	0	0
Eiweiß	0	0	0	0	0	0	0

Eine 1-promill. Pepsinlösung verlor nach 30 Stunden langer Erwärmung auf 60° C sein albumolytisches Vermögen und büßte das serolytische beinahe ganz ein, behielt aber noch die kaseino- und fibrinolytische Wirkung.

Dieselbe Lösung verlor nach 60 Stunden langer Erwärmung auf 60° C alle proteolytischen Eigenschaften mit Ausnahme des fibrinolytischen Vermögens.

Versuch 2. 10 ccm 1-proz. Pepsins in 4-proz. Weinsäurelösung wurden 1, 2, 3 Stunden auf 65° C erwärmt, dann in ähnlicher Weise wie oben geprüft; nach 10 Tagen:

Tabelle 8.

	Fibrin		Kasein		Serum		Eiweiß	
Erwärmt	I	II	I	II	I	II	I	II
1 Stunde	+	+	+	+	+	+	—+	—+
2 Stunden	+	+	+	+	—+	—	—	—
3 „	+	+	+	+	—+	—0	—0	—0

Die Erwärmung von Pepsin auf 60° C während 1, 2, 3 Stunden beraubte das Enzym seines fibrino- und kaseinolytischen Vermögens nicht, wohl aber ging die albumo- und serolytische Wirkung verloren.

4. Proteolytische Mikrobenenzyme.

Mit 1 Proz. Phenol versetzte Lösungen mehrerer Mikrobenenzyme wurden dem Sonnenlichte oder verschiedenen Temperaturen ausgesetzt, dann auf Gelatine im Röhrchen bei 20° C oder auf Fibrin bei 37° C geprüft.

Tabelle 9.

	Erwärmt 1 Stunde auf 50°		auf 60°		Kontrolle		Belichtet 200 St.		Kontrolle	
	Gelatine	Fibrin	Gelatine	Fibrin	Gelatine	Fibrin	Gelatine	Fibrin	Gelatine	Fibrin
	mm		mm		mm		mm		mm	
Bact. prodigiosum	27	0	0	0	20	+	4	0	28	+
„ pyocyaneum	27	0	0	0	22	+	8	0	22	+
Bac. vulgaris	15	+	15	0	+	+	2,5	0	7	+
„ tetani	6	—	4	0	10	+	.	.	.	.
„ anthracis sympt.	5	±	3	0	8	+	.	.	.	.
„ oedematis mal.	4	—	2	0	6	+	.	.	.	.
Vibrio cholerae asiat.	28	+	19	0	18	+	9	0	23	++
„ Finkler-Prior	25	+	12	0	20	+	10	—	30	++
„ massauensis	20	+	15	0	29	+	12	—	25	+
„ Metchnikoffi	15	+	10	0	25	+	7	—	15	+
„ tyrogenes	19	+	11	0	20	+	5	∓	10	+
„ Milleri	10	+	7	0	29	+	10	—	29	+
Fäulnisgemisch No. 1	11	+	5	0	18	+	11	+	80	++
„ „ 2	10	+	6	0	26	+	9	—+	28	++
„ „ 3	11	+	8	0	22	+	+	—+	20	++
„ „ 4	12	+	7	0	30	+	9	0	27	++
„ „ 5	13	+	8	0	31	+	12	+	31	++

Einstündige Erwärmung auf 50 und 60° C oder 200 Stunden lange Einwirkung des direkten Sonnenlichtes ließen das glutino- und fibrinolytische Vermögen der Bakterienprotease gleichzeitig verschwinden; war das fibrinolytische Vermögen erhalten, so behielt das Präparat auch das glutinolytische Vermögen bei.

X. Verhalten der einzelnen proteolytischen Enzyme bei der Porzellanfiltration.

A. Versuche mit Trypsin. Eine mit 1 Proz. Phenol versetzte Trypsinlösung (1 : 500) wurde fünfmal nacheinander durch Porzellankerzen filtriert und jedesmal die Wirksamkeit auf die genannten Eiweißkörper und Gelatine (7 Proz. Gelatine, 1 Proz. Phenol, 0,5 Proz. Soda) geprüft:

Tabelle 10.	Gelatine mm	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
1. Filtrat	10	+	—	0	0
2. „	9	+	—	0	0
3. „	7—8,5	+	0	0	0
4. „	7—8,5	—	0	0	0
5. „	7—8,5	—	0	0	0

B. Versuche mit Pepsin. Mit 4 Proz. Weinsäure angesäuertes Pepsin (1 : 200 und 1 : 500) wurde fünfmal durch Porzellankerze filtriert und in gewöhnlicher Weise geprüft:

Tabelle 11.	Gelatine mm	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
1 : 200 Pepsin	0	+	.	.	.
1. Filtrat	0	+	+	+	+
2. „	0	+	+	+	+
3. „	0	+	+	+	+
4. „	0	+	+	+	+
5. „	0	+	+	+	+
Unfiltriert	2—2,5	+	+	+	+
1 : 500 Pepsin					
1. Filtrat	0	+	+	+	—
2. „	0	+	+	—	—
3. „	0	+	+	—	0
4. „	0	—	0	0	0
5. „	0	0	0	0	0
Unfiltriert	1—1,5	+	+	+	—

C. Versuche mit Mikrobenproteasen. 100 ccm Bouillon und 1 g der vier Eiweißkörper wurden in kleine Kolben mit Gemischen von Fäulnisbakterien geimpft. Nach Auflösung der Eiweißkörper wurde die Flüssigkeit durch Papier filtriert, mit 2 Proz. Thymol versetzt und fünfmal durch Porzellan filtriert. Nach jeder Filtration wurde die proteolytische Tätigkeit in üblicher Weise geprüft. Zur Kontrolle wurden einige Versuche mit unfiltrierten Kulturflüssigkeiten gemacht:

Tabelle 12.	Gelatine mm	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
Kontrolle	10—11	+	+	+	0
1. Filtrat	8—8,5	+	+	0	0
2. „	7,5—8	+	+	0	0
3. „	6—6,5	—	—	0	0
4. „	6	0	—	0	0
5. „	5—5,5	0	0	0	0

Ergebnisse. 1) In keinem Falle beraubte die Porzellanfiltration die angewandten Proteasen des fibrino-, kaseino- und glutinolytischen, unter Beibehaltung des sero- und albumolytischen Vermögens.

2) Nach der fünften Filtration war das glutinolytische Vermögen des Pepsins auf ein Viertel rezudiert, das fibrinolytische Vermögen beinahe ganz verloren, während das kaseinolytische Vermögen nach der dritten Filtration gänzlich verschwunden war.

3) Das albumolytische Vermögen des Trypsins war durch die erste, das sero- durch die zweite, das kaseino- durch die dritte, das fibrinolytische durch die vierte Filtration aufgehoben.

4) Die Mikrobenproteasen hatten das albumo- und serolytische Vermögen bei der ersten, das fibrinolytische bei der dritten, das kaseinolytische bei der vierten und eine Hälfte des glutinolytischen Vermögens bei der fünften Filtration eingebüßt.

XI. Verhalten der einzelnen proteolytischen Fähigkeiten bei der Dialyse.

Aus früheren eigenen Untersuchungen über Diffusion der proteolytischen [1]) und invertierenden [2]) Enzyme hatte es sich ergeben, daß dieselben von gutem Pergamentpapier, aber nicht von Delaruepapier zurückgehalten werden. Pepsin und Trypsin verhielten sich bei der Dialyse wie Eiweißkörper und Peptone; die gleichzeitige Anwesenheit von Kochsalz und Glyzerin erleichterten die Dialyse des Trypsins.

Sollten die Verdauungssäfte und Enzympräparate Enzymgemische darstellen, so dürften die einzelnen einfachen Enzyme ungleich schnell diffundieren, so daß die Dialyse ein Mittel zur Trennung derselben darstellen dürfte.

Versuch I. 100 ccm einer mit 1 Proz. Phenol versetzten 1 proz. Trypsinlösung und 100 ccm einer mit 3 Proz. Weinsäure versetzten Pepsinlösung wurden durch einen Diffusionschlauch aus Pergamentpapier gegen 50 ccm 1-proz. Phenols, resp. 50 ccm 3-proz. Weinsäure dialysiert. Nach 24 Stunden wurden beide Flüssigkeiten auf ihre proteolytischen Eigenschaften geprüft:

Tabelle 13.

	Dialysierende Flüssigkeit					Dialysierte Flüssigkeit				
	Gelatine mm	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine mm	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
Trypsin	28	+	+	0	0	10	—	—	0	0
Pepsin	7—7,5	+	+	+	—	0	—	—	0	0

Versuch II. 100 ccm einer 2-proz. Trypsinlösung in gesättigtem Thymolwasser und 100 ccm einer 2-proz. Pepsinlösung in 3-proz. Weinsäure wurden dialysiert. Die Außenflüssigkeit bestand aus 50 ccm Thymolwasser resp. 3-proz. Weinsäure. Nach 24 Stunden wurden beide Flüssigkeiten geprüft.

Tabelle 14.

	Dialysierende Flüssigkeit					Dialysierte Flüssigkeit				
	Gelatine mm	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine mm	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
Trypsin	30—31	+	+	0	0	20—22	+	+	0	0
Pepsin	.	+	+	+	+	.	+	+	+	+

1) Fermi, Cl., Weitere Untersuchungen über die tryptischen Enzyme (Arch. f. Hyg. Bd. 10. p. 11.)

2) Fermi, Cl. u. Pernossi, L., Su gli enzimi. (Ann. R. Istit. Igiene. Roma. ser. 2. Vol. 14. p. 125); Fermi, Cl. u. Montesano, G., Su la inversione del saccarosio da parte dei microbi. (Ebenda. p. 424.)

Versuch III. Die 2-proz. Trypsinlösung wurde mit 5 Proz. Glyzerin und 5 Proz. Kochsalz, die Pepsinlösung mit Milch- und Salzsäure versetzt, weil frühere Erfahrungen eine Diffusionsbeschleunigung durch diese Stoffe erwiesen hatten. Die Flüssigkeiten wurden nach 3 und 5 Tagen geprüft:

Tabelle 15.

	Trypsin		Pepsin			
			2-promill. Salzsäure		3-proz. Milchsäure	
	Nach 3 Tagen	Nach 5 Tagen	Nach 3 Tagen	Nach 5 Tagen	Nach 3 Tagen	Nach 5 Tagen
Dialysierende Flüssigkeit auf Gelatine (mm)	40	29—30	0	0	10	7—7,5
„ Fibrin	—	?	+	+	+	+
„ Kasein	+	+	+	+	+	+
„ Serum	—	0	+	+	—	+
„ Eiweiß	—	0	0	+	0	+
Dialysierte Flüssigkeit auf Gelatine (mm)	19,5—20	2,5	0	0	0	2,5
„ Fibrin	+	+	0	0	+	0
„ Kasein	—	+	0	0	+	0
„ Serum	0	0	0	0	+	0
„ Eiweiß	0	0	0	0	—	0

Ergebnisse. 1) Wird bei der Dialyse das kaseino-, fibrino- und glutinolytischse Vermögen zurückgehalten, so dialysiert auch das sero- und albumolytische Enzyme nicht. War das fibrino- und kaseinolytische Enzym herausdiffundiert, so war auch das glutinolytische Enzym dialysiert.

2) Nach 24-stündiger, 3- und 5-tägiger Dialyse waren im Dialysat $^1/_3$ des glutinolytischen, Spuren des fibrino- und kaseino-, aber keine Spur des sero- und albumolytischen Vermögens des Trypsins vorhanden.

3) Das Pepsindialysat besaß eine Spur von glutinolytischem und ein erhebliches fibrino-, kaseino-, sero- und albumolytisches Vermögen.

4) Bei Gegenwart von Wein- und Milchsäure hatte das Pepsindialysat die genannten Eigenschaften, während bei Salzsäuregegenwart keine Wirkung zu beobachten war. Wein- und Milchsäure dürften somit die Pepsindialyse begünstigt haben.

Nachdruck verboten.

Die Säurebildung beim Bact. coli in Mischkulturen mit Bact. paratyphi.

Vorläufige Mitteilung.

Von **Alb. Fischer,** Kopenhagen.

Mit 2 Textkurven.

In dieser Zeitschrift[1]) haben E. Buch Andersen und Alb. Fischer eine kurze Mitteilung über die Säurebildung beim Bact. coli gemacht, wobei bezweckt wurde, dem Fortschreiten der Säurebildung Schritt für Schritt zu folgen.

Diese hier angeführten Untersuchungen sind mit der denkbar größten Genauigkeit ausgeführt worden. Die Erfahrung hat gelehrt, daß man

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 33. 1912. p. 289.

beim Titrieren mit $^1/_{10}$ n. NaOH und gleichzeitigem Ablesen der Bürette mit der Meniskusvisierblendung weit genauere Resultate bekommt, als wenn man mit $^1/_{100}$ n. NaOH titrierte. Das feine Ablesen gestattet uns, mit einer Genauigkeit von $^1/_{100}$ ccm zu rechnen, gleichzeitig ist der Umwandlungspunkt, mit Phenolphthaleïn als Indikator, weit mehr distinkt, als wenn man mit $^1/_{100}$ n. titriert.

Um eine Verunreinigung der Kultur zu vermeiden, war das Verfahren bei den Versuchen etwas anders als bei den vorigen Versuchen. Es wurde auf einmal eine größere Portion Peptonzuckerwasser[1]) hergestellt, um eine Zusammensetzung der Nährflüssigkeit zu bekommen, die möglichst konstant ist. Diese wurde alsdann auf die bekannten viereckigen Tinkturflaschen mit bzw. 23—24—25 ccm in jeder verteilt. Alle Flaschen wurden dann zugleich autoklaviert.

Die Versuche gingen auf folgende Weise vor sich: 12 Stunden vor Beginn des Versuches wurde das betreffende Bakterium aus einer Gelatinekultur auf eine Flasche mit 25 ccm Peptonzuckerwasser übertragen und bei 37,5° C in den Thermostat gestellt. Genau 12 Stunden später wurde sie herausgenommen und mit einer sterilen Pipette (in $^1/_{100}$ ccm geteilt) wurde diese Kultur dann nach kräftigem Schütteln mit 1,00 ccm auf jede der 10 Flaschen verteilt, von denen jede 24 ccm Peptonzuckerwasser im voraus enthielt. Die 9 Flaschen wurden in den Thermostat gestellt und die 10. wurde sofort um 8 Uhr vorm. titriert. Mit Zwischenräumen von $1^1/_2$ Stunden wurde eine Flasche aus dem Thermostat genommen und titriert, und das Resultat ins Journal eingetragen. Der Versuch dauerte also von 8 Uhr morgens bis $9^1/_2$ Uhr abends. Auf diese Weise konnten wir je 3 Versuche ausführen (B. coli; paratyphi; Mischung), wo die Entwickelung der Bakterien so konstant wie möglich war. Zu bemerken ist nur, daß die Gesamtmenge der Nährflüssigkeit in jeder Flasche, nachdem die Bakterien zugesetzt waren, immer 25 ccm betrug; sollte eine Mischkultur untersucht werden, so wurde den 23 ccm Nährflüssigkeit 1 ccm jeder der betreffenden Bakterien zugesetzt.

Die Bakterien, welche bei den Untersuchungen (Bact. paratyphi B und Bact. coli) zur Anwendung gekommen sind, sind Stämme, die uns bereitwilligst von „Universitetets Institut for alm. Pathologi, Köbenhavn, resp. vom Hygienischen Institut der Universität Leipzig zur Verfügung gestellt worden sind.

Ein Teil der Versuchsresultate ist auf nachstehender Tabelle zusammengefaßt, wo die beiden Kolonnen am weitesten links die Nummer der Kultur und die Zeit angeben, in der die verschiedenen Flaschen titriert sind. Man sieht, welche Vorteile daraus erwachsen, daß die Versuche alle genau zu gleicher Zeit ausgeführt sind; denn sonst würde man die Resultate nicht ohne weiteres vergleichen können. Die Zahlen der übrigen Kolonnen geben an, wie viele Kubikzentimeter $^1/_{10}$ n. NaOH zuzusetzen waren, um die gebildete Säure zu neutralisieren. Aus gewissen Gründen sind die Zahlen alle mit 2 multipliziert.

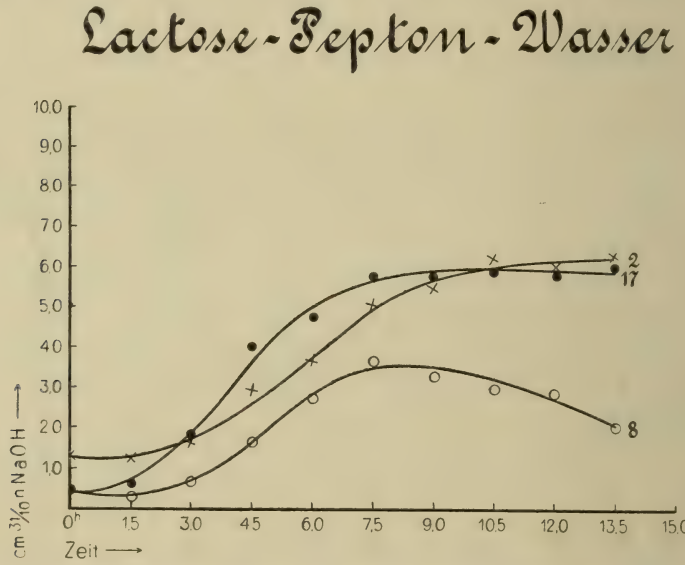
Werden diese Resultate z. B. für das Bact. coli graphisch aufgestellt, so bekommt man eine typische Säurenkurve, wo sich der Säuregehalt asymptotisch einem Maximum nähert. Man bemerkt hier sehr bald, daß dies Maximum schneller erreicht wird, wenn die Säurebildung

---

1) Laktose-Pepton-Wasser: Pepton (Wittes) 1 Proz.; Laktose 2 Proz.; NaCl 0,5 Proz. Dextrose-Pepton-Wasser: Pepton (Witte) 1 Proz.; Dextrose 2 Proz; NaCl 0,5 Proz.

in Dextrosepepton-Wasser vor sich geht. Durchweg ist die Säurebildung hier größer, was man unmittelbar an der Endtitrierung sehen kann.

Anders verhält es sich mit dem Paratyphus B, da er keine Säure im Laktose-Pepton-Wasser bildet. Man sieht (Fig. I, 8), daß der Paratyphus B trotzdem Säure bildet; diese stammt jedoch nicht von der Laktose. Sie läßt sich auf 2 Arten erklären; entweder, und dies ist oft der Fall, findet sich Traubenzucker im Pepton, oder es läßt sich ein Teil der Laktose von der dem Pepton anhaftenden Säure hydrolysieren, wodurch Dextrose gebildet wird, die die Paratyphi zu vergären vermag. Wenn sich keine Dextrose mehr bildet, kann sich auch keine Säure mehr bilden, und die Kurve wird nun rekurrent, indem sie stark abwärts geht. Ob nun der rekurrente Verlauf darin seinen Grund hat, daß sich die gebildete Säure durch Adsorption zum Protein bindet, oder ob die Paratyphi jetzt Basen produzieren, ist vorläufig nicht gut zu sagen; sicher aber ist es, daß die Kurve für Paratyphus zurückgeht, nachdem sie ein Maximum erreicht hat. In Dextrose-Pepton-Wasser zeigt der Paratyphus



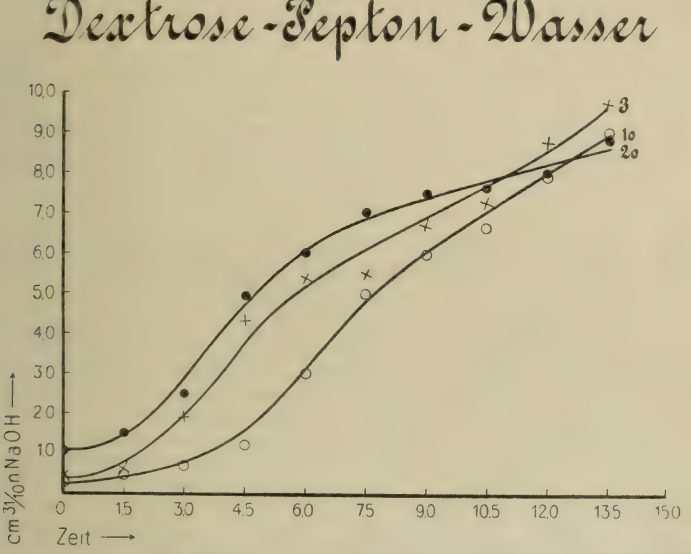
			Coli in Laktose		Coli in Dextrose		Paratyphi B in Laktose				
No.	Uhr	Zeit	1	2	3	4	5	6	7	8	9
I	8,0 St.	0,0St.	1,00	1,30	0,46	0,52	0,60	1,24	0,48	0,44	0,26
II	9,5 „	1,5 „	1,04	1,24	0,58	0,66	0,80	1,44	0,54	0,28	0,52
III	11,0 „	3,0 „	1,58	1,66	1,88	1,20	0,76	1,66	0,72	0,68	0,94
IV	12,5 „	4,5 „	1,70	2,96	4,28	3,48	0,78	1,92	0,46	1,64	2,28
V	2,0 „	6,0 „	4,18	3,66	5,32	5,34	0,98	1,72	2,66	2,72	2,96
VI	3,5 „	7,5 „	5,06	5,08	5,44	6,12	1,68	1,96	2,78	3,68	4,16
VII	5,0 „	9,0 „	5,36	5,46	6,62	7,08	3,30	4,68	5,02	3,28	3,34
VIII	6,5 „	10,5 „	7,10	6,18	7,22	8,16	4,96	1,98	4,38	2,92	2,58
IX	8,0 „	12,0 „	4,56	6,00	8,62	8,60	4,36	1,68	2,80	2,84	1,42
X	9,5 „	13,5 „	6,14	6,24	9,70	9,56	2,42	3,18	2,78	2,00	1,38

eine normale typische Säurekurve, deren Lage fast wie die des Bact. coli ist.

In der Mischkultur des Paratyphus B und Bact. coli erhalten wir ebenfalls eine normal aussehende Säurekurve. Wenn wir diese in dasselbe Koordinatensystem einzeichnen, wie es bei den Kurven geschah, die wir aus beiden Bakterien, jede für sich, erhielten, so sehen wir, daß die Mischungskurve steiler ansteigt und die Coli-Kurve kreuzt, deren Maximum wir jedoch eher als das der Mischungskurve erreichen.

Wenn wir die Kurve im Laktose-Pepton-Wasser betrachten, sollte man von vornherein meinen, daß B. paratyphi B im Verein mit coli eine schwächere Säurebildung zustande brächten, oder jedenfalls nicht dazu beitrügen, dieselbe zu verstärken; das Gegenteil ist jedoch der Fall, da nämlich die Mischungskurve steiler ist und weit schneller, als die entsprechende Coli-Kurve steigt.

In Dextrose-Pepton-Wasser ist, wie zu erwarten war, die Säurebildung in der Mischung stärker, als die, welche jede für sich hervorbringen kann.



Paratyphi B in Dextrose		Paratyphi II B in Laktose			Paratyphi B + Coli in Laktose			Parat. II B + Coli in Laktose	Parat. II B + Coli in Dextrose	
10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0,28	0,40	0,22	0,28	0,36	0,68	0,80	0,44	0,80	1,36	1,04
0,46	0,68	0,42	0,52	0,66	0,76	0,74	0,62	1,26	0,86	1,50
0,66	0,80	0,74	1,06	0,50	1,34	1,44	1,84	2,46	3,30	2,44
1,20	1,00	0,82	0,86	1,44	2,92	3,42	4,02	3,72	4,58	4,90
3,00	1,44	1,82	1,42	1,58	4,20	5,16	4,76	4,40	6,16	6,00
4,94	3,48	2,90	3,44	2,96	5,42	5,62	5,78	5,56	6,44	7,00
5,92	3,06	3,56	4,00	3,80	5,72	5,86	5,74	5,70	7,10	7,48
6,54	6,16	3,96	4,34	4,26	6,20	6,50	5,86	5,88	7,80	7,56
7,82	6,86	3.86	3,10	4,04	6,46	5,04	5,77	6,00	8,60	7,96
8,98	8,00	1,98[1])			7,02	6,56	5,98	6,32	8,90	8,78

1) Am nächsten Tage 8,0 Uhr vorm. titriert.

Aus den Erklärungen, welche man geben könnte, hat folgende am meisten für sich: Die Laktose, welche ein Disaccharid und deswegen für Paratyphi B zu reichhaltig ist, muß erst, um vergärt werden zu können, in Monosaccharide Glykose und Galaktose hydrolysiert oder gespalten werden, und zwar nach der Gleichung:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = 2\ C_6H_{12}O_6.$$

Damit dies geschehen kann, muß ein hydrolytisch spaltendes Enzym, Laktase, vorhanden sein. Dies fehlt aber. Paratyphus B kann deswegen die Laktose weder spalten noch vergären. Das ist der Grund dafür, daß Paratyphi B den Milchzucker nicht angreifen, aber im Verein mit dem Bact. coli, welches im Besitze des Enzyms Laktase ist, wird es mit der Vergärung doppelt so schnell gehen, indem sie die Monosaccharide nach und nach, wie die Coli die Laktose zu hydrolysieren vermögen, zu spalten. In Dextrosepeptonwasser hat man für ein hydrolysierendes Enzym keinen Gebrauch, da es von vornherein ein Monosaccharid ist.

Man sieht hier, wie verhältnismäßig leicht man verschiedene Einflüsse auf die typische Säurekurve zu beobachten vermag.

Nachdruck verboten.

Das Vorkommen von Tuberkelbacillen im strömenden Blut[1]).

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie (Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Uhlenhuth) und der medizinischen Poliklinik (Prof. Dr. Erich Meyer) der Universität Straßburg i. E.]

Von Dr. **Alfons Rothacker** und Med.-Prakt. **Charon.**

Noch vor wenigen Jahren wurde allgemein angenommen, daß Tuberkelbacillen im strömenden Blut nur bei Miliartuberkulose oder Phthise im allerletzten Stadium vorkämen. Sagte doch noch Cornet 1900: „Es ist eine lediglich spekulative Annahme, daß im lebenden Phthisiker häufig Bacillen kreisen, denn gefunden hat man sie bis jetzt in einwandfreier Weise niemals außer bei akuter Miliartuberkulose und ausnahmsweise bei Phthisikern in extremis. Letzter Befund bedeutet aber nicht ein harmloses Zirkulieren, sondern ist der Vorläufer des Todes.“ Bei der Miliartuberkulose gelang es schon im Jahre 1868 Villemin, im Tierversuch die Infektiosität des Blutes festzustellen, und Heller berichtete auf dem Naturforschertage in Freiburg 1883 über das Vorkommen von Tuberkelbacillen im Blut. Ihm folgte 1884 Weichselbaum, der in 3 Fällen von Miliartuberkulose Bacillen im mikroskopischen Präparat nachwies. Darauf erschienen Arbeiten von Meisel, Hildebrand und Huguenin, die je einen positiven Tierversuch aufzuweisen hatten. Sticker, Gary, Bergeron, Lüdke, Körmoczi und Jassniger, Lustig, Rütimeyer u. a. m. hatten in 1—25 Proz. der meist sehr schweren Fälle positive Tierversuche. Jousset stieß auf Widerstand, als er 1903 in der Société médicale des hôpiteaux über positiven Bacillenfund im Blut berichtete.

Er gab gleichzeitig die von ihm benutzte Methode der „Inoscopie“ (Fibrinflocken gepreßt und durch Pepsin verdaut) an, die nach ihm auch Krause benutzte[2]). Jousset erhärtete seine Angaben auch durch Tierversuche, die in 31 Proz.

1) Das Ergebnis dieser Untersuchungen wurde bereits auf der Mikrobiologenversammlung in Berlin, 3. April. 1913, von Dold mitgeteilt.

2) Neuerdings schlug Kessler vor, das Blut aus der Fingerbeere oder dem Ohrläppchen in ein enges Röhrchen zu saugen, das Fibrin durch Trypsin zu verdauen und die ganze Masse mit Antiformin aufzulösen. Dabei schlägt er die Benutzung von Leitungswasser vor. Diese Methode ist aus demselben Grund wie die Joussetsche Inoskopie (s. u.) und wegen der Möglichkeit des Eindringens anderer säurefester Bakterien aus der Wasserleitung zu verwerfen.

(bei sehr schweren Fällen) positiv ausfielen. Lesieur bediente sich zur Blutentnahme der Blutegel, um die Gerinnung des Blutes zu verhindern. Gegen dieses Verfahren ist entschieden Einspruch zu erheben, da sowohl bei anderen Kaltblütern, als auch im Schlamm nicht-pathogene säurefeste Bacillen nachgewiesen wurden, die Tuberkelbacillen vortäuschen können. Tierversuche wurden von ihm nicht angestellt. Auch Besançon, Griffon und Philibert hatten einige positive Fälle im mikroskopischen Präparat.

Da also einmal die Methode nicht ganz einfach, andererseits die Resultate von verschiedenen Seiten angezweifelt wurden, gerieten diese zum Teil sehr fleißigen Arbeiten in Vergessenheit, bis Stäubli durch Zusatz von 37 Proz. Essigsäure zum Blut die Untersuchung auf Parasiten im Blut (Filarien, Trypanosomen etc.) wesentlich vereinfachte und nach ihm Schnitter durch Kombination der Stäublischen Methode mit dem Antiforminverfahren (Uhlenhuth) für die Auffindung der säurefesten Stäbchen günstige Bedingungen schufen. Schnitter selbst fand bei 31,6 Proz., Lippmann bei 44 Proz., Rosenberger in 100 Proz., Jessen und Rabinowitsch in 33 Proz., Hilgermann und Lossen in 25 Proz. ihrer Fälle (Tuberkulosen 1.—3. Grades) im mikroskopischen Ausstrich säurefeste Stäbchen im Blut, die sie als Tuberkelbacillen deuteten. Forsyth fand solche nur bei offener Lungentuberkulose, nicht aber bei geschlossener. Tierversuche wurden von keinem der angeführten Autoren angestellt.

Es würde zu weit führen, auf all die einschlägigen Untersuchungen älteren oder jüngeren Datums einzugehen. Sie folgen weiter unten in tabellarischer Anordnung. Es wurden entweder nur Tierversuche angestellt oder die Bacillen nur im mikroskopischen Präparat mit mehr oder minder gut ausgearbeiteter Technik aufgesucht. Auf jeden Fall stimmten die Resultate niemals überein, und ein Autor zieh den anderen der fehlerhaften Technik.

Erst nachdem Brem, Beitzke, Schern und Dold gezeigt hatten, daß die Wasserschläuche und Wasserhähne der Laboratorien massenhaft säurefeste Bacillen beherbergten, daß ferner auch im Bodensatz von destilliertem Wasser, das längere Zeit stand, sich säurefeste Bacillen fanden, die mikroskopisch von echten Tuberkelbacillen nur schwer oder gar nicht unterschieden werden konnten, wurde man sich bewußt, daß säurefeste Bacillen an allen Untersuchungsgegenständen haften und in den benutzten Flüssigkeiten sich befinden konnten.

Um diese Fehlerquelle zu beseitigen, schlug als erster Rosenberger vor, alle Gefäße, Instrumente, Pinzetten, Objektträger etc. vorher immer einige Zeit in konz. Schwefelsäure aufzubewahren, resp. sie darin oder in Sodalösung zu kochen, nie Leitungswasser zu verwenden, sondern immer frisch destilliertes, und die nicht gefärbten Objektträger nie mit Fließpapier zu trocknen.

Unter diesen peinlichen Kautelen sind dann auch alle neueren Arbeiten vorgenommen worden, auf die ich nun etwas ausführlicher eingehen möchte.

Wie oben schon erwähnt, hat Schnitter die Stäublische Methode zum Parasitennachweis im Blut modifiziert, um möglichst rasch die Tuberkelbacillen im Blut zur Anschauung zu bringen. Seine Methode ist folgende: 10—15 ccm Blut (durch Venaepunctio gewonnen) werden in die gleiche Menge 2-proz. Zitronensäure (um das Gerinnen zu verhindern) laufen gelassen, mit derselben Menge 3-proz. Essigsäure versetzt, vorsichtig geschüttelt und eine halbe Stunde stehen gelassen. Wenn dann, unter Einwirkung der Essigsäure, aller Blutfarbstoff aus den roten Blutkörperchen getreten ist, wird kräftig zentrifugiert. Der gut sichtbare Bodensatz wird mit der 2—5fachen Menge 15-proz. Antiformins versetzt, bis sich der Bodensatz unter Gasbildung völlig aufgelöst hat, was nicht lange Zeit dauert, dann wird wieder zentrifugiert, ausgewaschen und der kaum sichtbare Bodensatz ausgestrichen. Färbung nach Ziehl-Neelsen.

Schnitter glaubte, mit dieser Methode schneller und sicherer zum Ziele zu kommen, als mit dem Tierversuch, weshalb er letzteren unterließ. Im mikroskopischen Präparat fand er nur sehr spärliche Bacillen (in 1 ccm nur 2—5). weshalb er annahm, daß wohl bei jeder tuberkulösen Affektion irgendeines Organs Tuberkelbacillen regelmäßig im Blut kreisten, daß es jedoch zu keiner Miliartuberkulose zu kommen brauchte, denn letztere würde nur durch explosionsartiges Eindringen in die Blutbahn bedingt, wobei die schützenden Kräfte (Phagocytose etc.) im Blute mit der großen Masse der Bacillen nicht fertig würden. Wie schon oben erwähnt, fand er bei 31,6 Proz. säurefeste Stäbchen im Blut. Er ist der Ansicht, daß die Zahl der positiven Befunde mit der Schwere der Erscheinungen wächst.

Jessen und Rabinowitsch, die in 33 Proz. ihrer Fälle jeden Stadiums säurefeste Stäbchen im Blut fanden, warnen zwar vor der prognostischen Verwertung der Befunde, glauben jedoch an ihren diagnostischen Wert. Auch sie bedienten sich zum Teil der Schnitterschen Technik.

Großes Aufsehen machten die Resultate von Kurashige. Er fand nämlich nicht nur, gleich Rosenberger, in 100 Proz. seiner 155 Fälle (jeden Stadiums) säurefeste Stäbchen im Blut — manchmal bis 30 Stäbchen in einem Gesichtsfeld —, sondern auch in 59 Proz. bei anscheinend Gesunden (Aerzten und Pflegerinnen). Von letzteren

wurden im Laufe von 8 Monaten 3 von tuberkulöser Pleuritis, 2 von Initialhämoptoe befallen. 8 vor 9 Monaten intravenös gespritzte, vorher anscheinend gesunde Kaninchen wiesen alle Tuberkelbacillen im Blut auf. Die Autopsie ergab mikroskopisch nur das Bild narbiger Ausheilung. In 4 Fällen war die Verimpfung von Blutsediment auf Meerschweinchen positiv.

Kurashige kommt infolge dieser Resultate zum Schluß, daß man die Ansicht über das Eindringen der Tuberkelbacillen sowie über das Wesen der Erkrankung gründlich ändern müsse. „Die Ansicht, daß das Wesen der tuberkulösen Erkrankung eigentlich auf einer primären Bacillämie oder wenigstens auf einer von Anfang an generalisierten Erkrankung beruht und daß die hier und da lokalisierten Herde, z. B. in den Lungen, lediglich sekundäre Veränderungen im Locus minoris resistentiae sind, kann man weder für eine unberechtigte noch spekulative halten."

Bei dieser Arbeit fällt vor allem der hohe Bacillenbefund im Blut auf. Während bei Schnitter im Kubikzentimeter nur 2—5 Bacillen sind, finden sich bei Kurashige zehn bis hunderte. Wir werden weiter unten noch darauf zurückkommen.

In einer zweiten Mitteilung kam Kurashige zu dem Schluß, daß das Vorhandensein von Tuberkelbacillen bei Tuberkulösen keineswegs vorübergehend ist, sondern ein konstantes und dauerndes Sympton sei, und zwar nicht nur bei schwer, sondern auch bei ganz leicht Kranken. Von dem Vorhandensein von Bacillen im Blut könne man nicht auf die Schwere des Zustandes schließen.

In seiner dritten Mitteilung, die er zusammen mit Mayeyama und Yamada veröffentlichte, berichtet er über Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Frauenmilch. Bei 20 Phthisikerinnen fand er in 85 Proz. Tuberkelbacillen in der Milch, während sich in der Milch von 2 gesunden Frauen keine fanden. Wo in dem Blut Tuberkelbacillen waren, fanden sie sich auch in der Milch. Die Hauptquelle der Tuberkelbacillen in der Milch sei demnach das Blut.

Sturm, der die Untersuchungen Kurashiges nachprüfte, kam zu ganz anderen Resultaten. Auch er wandte, wie Kurashige, die Schnittersche Technik an, färbte dann aber ein Präparat nach Ziehl-Neelsen, ein anderes nach Much (Granulafärbung Gram II). Er kam zu dem Ergebnis, daß von den nach Ziehl gefärbten Präparaten 22 Proz. positiv waren, während bei den nach Much gefärbten 42 Proz. Tuberkelbacillen zeigten. Bei 10 Nichttuberkulösen fanden sich keine Bacillen. Tierversuche fielen in 46 Proz. positiv aus.

Vor etwa einem Jahr veröffentlichten zwei Japaner Suzuki und Takaki eine aufsehenerregende Arbeit, in der sie den Bacillenfund im Blut von Tuberkulösen jeden Stadiums in Beziehung setzten mit der Pirquetschen Reaktion. Sie untersuchten 517 Blute Tuberkulöser jeden Stadiums und fanden in 98,5 Proz. Stäbchen im Blut, ebenso bei 54 Gesunden in 51,85 Proz.[1]). Merkwürdigerweise war bei allen den Personen, die Stäbchen im Blute hatten, die Pirquetsche Reaktion positiv. Suzuki u. Takaki ziehen daraus den Schluß, daß diejenigen Patienten, bei denen die Pirquetsche Reaktion positiv ausfällt, immer Tuberkelbacillen im Blut haben. Verarbeitet wurde je 1 ccm Blut nach der Stäubli-Schnitterschen Technik; Färbung erfolgte nach Ziehl, Neelsen und Much. Tierversuche wurden nicht angestellt. L. Rabinowitsch vermutet, wie wir unten sehen werden, daß die Pirquetsche Reaktion die Bacillen mobilisiert habe.

Berechtiges Aufsehen erregte auf dem 29. Kongreß für innere Medizin in Wiesbaden 1912 Liebermeister, als er bei Beantwortung seiner Fragestellung, ob wir berechtigt sind, von einer „sekundären" Tuberkulose zu sprechen, seine Resultate mitteilte (Med. Klinik. 1912. No. 25). Zuerst teilte er die Ergebnisse seiner Tierversuche mit: Bei „tertiärer"[2]) Tuberkulose erzielte er unter 100 Fällen durch Verimpfung von Blut auf Meerschweinchen 40mal Impftuberkulose. Bei nicht an klinisch nachweisbarer aktiver Tuberkulose leidenden Patienten hatte er 6 positive Tierversuche. Bei 4 von diesen wurden auch im Blut säurefeste Bacillen gefunden. Eine Stallinfektion hält er für ausgeschlossen, da er die infizierten Tiere in einem besonderen Haus gehalten habe. Liebermeister erwähnt dazu folgendes: „Es ist mir in zahlreichen Fällen bei schwerster Tuberkulose vorgekommen, daß von 3 mit gleichen Mengen Blut eines und desselben Patienten gleichzeitig infizierten Meerschweinchen nur eines oder zwei an Tuberkulose erkrankten und der Rest gesund blieb. Aus diesem sehr oft erhobenen Befund ergibt sich schon mit Sicherheit, daß der positive Tierversuch volle Beweiskraft hat, daß aber der negative nicht beweist, daß keine Bacillen im Blut kreisen."

Der Impfmodus war folgender: 3—6 ccm Blut wurden aus der Vene entnommen und jungen Meerschweinchen teils in das axillare Unterhautbindegewebe, teils nach Oppenheimer in die Lebersubstanz eingespritzt. Die Tiere mußten längere Zeit

1) Von diesen erkrankten später 4 an Lungentuberkulose, 2 an tuberkulöser Pleuritis, 2 an tuberkulöser Peritonitis.

2) Unter „tertiärer" Tuberkulose versteht L. eine tuberkulöse Lokalerkrankung.

beobachtet werden, da die Impftuberkulose oft protrahiert verlief. Den negativen Ausfall der Tierversuche erklärte sich Liebermeister so, daß die mit dem Blut injizierten Bacillen, welche schon in sehr kleinen Mengen im Blute kreisen, geschädigt oder abgetötet sind. „Das Tier wird also mit geringen Mengen eines verhältnismäßig wenig virulenten Materials infiziert und zugleich durch das miteingespritzte Blut immunisiert."

Auch mikroskopisch hat Liebermeister das Blut Tuberkulöser untersucht.

Die Joussetsche Inoskopie wurde von ihm verworfen, da das dabei zur Verwendung kommende Pepsin so gut wie immer Bacillen enthielt[1]). Deshalb bediente auch er sich der Stäubli-Schnitterschen Methode. Unter den peinlichsten Kautelen wurden von ihm 1—2 ccm Blut verarbeitet. Auch stellte er von Zeit zu Zeit Leerversuche an, um sich zu überzeugen, ob sich nicht in den verwendeten Gefäßen usw. säurefeste Bacillen befänden. Als positiv sah er nur „Normal"-Bacillen an, deshalb ließ er auch die Muchsche Methode wieder fallen, da die Granula keine ganz sichere Diagnose erlaubten. Seine Ergebnisse sind folgende: Bei 15 Fällen von offener Lungentuberkulose fand er jedesmal säurefeste Stäbchen im Blut, unter 13 Fällen geschlossener Lungentuberkulose 11 mal. Bei mehr als 70 Menschen, bei denen eine tertiäre Tuberkulose klinisch nicht nachweisbar war, fanden sich im Blut säurefeste Bacillen, die nicht von Tuberkelbacillen zu unterscheiden waren. Ebenso wurden im mikroskopischen Präparat säurefeste Bacillen gefunden bei 4 Fällen von Skrofulose, 5 Fällen von Kinderatrophie und 4 Fällen von abgeheilter Skrofulose. Bei abgeheilter Skrofulose waren 2 Tierversuche positiv.

Durch die Poncetschen Arbeiten angeregt, ging er auch daran, das Blut bei Patienten mit rheumatischen Erkrankungen zu untersuchen. Es war in 37 Fällen positiv, ebenso in einer ganzen Zahl anderer Erkrankungen (Chorea, Ischias, Anämie, Bleichsucht, Pseudochlorose, Ulcus ventriculi, Nephritis, Lebercirrhose u. a. m.), die der besseren Uebersicht halber besser unten in der tabellarischen Uebersicht nachgesehen werden. Erwähnenswert scheint uns nur die Auffindung eines richtigen Tuberkelbacillenzopfes bei einer Chorea rheumatica, verbunden mit Herzfehler. Liebermeister glaubt annehmen zu müssen, daß diese Krankheiten zur Tuberkulose in Beziehung stehen. Nur die Art der Beziehung ist noch dunkel. Er ist der Ansicht, daß vielleicht durch irgendwelche andere Krankheiten die latente Tuberkulose zum Aufflackern gebracht („reaktiviert") wird, und dadurch Bacillen in die Blutbahn gelangen. Er hält nach allen diesen Befunden den Begriff der sekundären Tuberkulose, analog der sekundären Syphilis, für vollauf berechtigt.

Eine Bestätigung der Untersuchungen Liebermeisters bringt die Arbeit Rumpfs, der zusammen mit Zeissler ebenfalls Blut Tuberkulöser untersuchte. Er verwandte statt des Citrats in der Schnitterschen Methode Oxalat, und löste mit konzentriertem Antiformin auf. Auch er stellte seine Untersuchungen unter allen möglichen Kautelen an, um eine Verwechslung mit anderen „Säurefesten" ausschließen zu können. Er untersuchte das Blut von 25 tuberkulösen Patienten seines Sanatoriums und fand in 100 Proz. säurefeste Stäbchen. Ferner verarbeitete er das Blut von 7 Gesunden und von 6 früher Geheilten und fand bei jedem säurefeste Stäbchen.

Darauf wurden 35 Meerschweinchen gespritzt mit Blut von Menschen, bei denen allen mikroskopisch Stäbchen gefunden worden waren (also von Gesunden, leicht und schwer Kranken). Von diesen fielen 3 positiv aus (1 vielleicht) = 8,5 Proz.; doch sollen die tuberkulösen Veränderungen manchmal sehr geringgradig gewesen sein.

An diese Untersuchungen möchten wir noch eine Arbeit von Klara Kennerknecht anreihen, die bei 120 Kindern (sichere Tuberkulose, Tuberkuloseverdacht und Gesunde) das Blut, nach der Schnitterschen Methode, auf säurefeste Bacillen untersuchte und bei 109, d. h. in 91 Proz. solche fand. 13 auf Meerschweinchen verimpfte Blute erzeugten alle Tuberkulose. Bei der Diagnosestellung auf Impftuberkulose verfuhr sie so, daß, wenn nicht makroskopisch typische tuberkulöse Veränderungen an den Organen bemerkt werden, sie die Organe im Mörser zermalmte, in Antiformin auflöste und dann die Bacillen mikroskopisch nachwies. Genau so war Sturm (s. o.) vorgegangen. Dieses Verfahren wurde mit Recht von Bacmeister und Rabinowitsch kritisiert, denn es ist schon länger bekannt, daß bei Herbivoren normalerweise säurefeste sogenannte Fütterungsbacillen (Thimothee-, Mist- und Grasbacillen) ins Blut und somit in die Organe gelangen können. Ferner hat Bacmeister die mikroskopischen Präparate Kennerknechts durchgesehen, konnte jedoch die gefundenen Bacillen nicht als typisch anerkennen.

Viel weniger positive Resultate erhielt Fränken. Er untersuchte 51 Fälle II. und III. Grades und fand nur 5, d. h. 9,8 Proz. im mikroskopischen Präparat positiv. Von Tierversuchen fielen 7 positiv aus. Er stellte die Tierversuche mit derselben Probe an, die er mikroskopisch untersucht hatte.

1) S. o. auch den Vorschlag von Kessler p. 478 Anm.

Auch Felix Klemperer hat sich mit der Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen im Blut beschäftigt, und zwar untersuchte er mittels des Stäubli-Schnitterschen Verfahrens bei Gebrauch von 33 Proz. Antiformin und Färbung nach Ziehl 39 Blute von Tuberkulösen, Tuberkulose Verdächtigen, nicht tuberkulösen Kranken und Gesunden. Tierversuche setzte er nicht an. Er fand bei Tuberkulösen und Tuberkulose Verdächtigen in der Mehrzahl der Fälle säurefeste Stäbchen im Blut (s. Tabelle), ebenso bei einem Kranken mit Lebercirrhose, dagegen niemals bei Gesunden. Auch er sah, ähnlich unseren Befunden, in den Präparaten viele rotviolette Stäbchen und rote Farbniederschläge. Dabei machte er die merkwürdige Beobachtung, daß bacillenfreies Blut sich in Antiformin schwerer löste als tuberkelbacillenhaltiges Blut. Er zog daraus den Schluß, daß das letztere eine geringere Widerstandskraft besitzt. Uns war ein solches Verhalten nie aufgefallen. Er mißt dem Bacillenfund im mikroskopischen Präparat einen wertvollen diagnostischen, jedoch keinen prognostischen Wert bei. Entgegen den Befunden von Suzuki und Takaki fand er, daß bei weitem nicht alle auf Pirquet positiv Reagierenden Bacillen im Blut haben.

Sehr interessant und mit unseren Befunden, was den Ausfall der Tierversuche betrifft, sich am meisten deckend sind die Untersuchungen von Bacmeister und Rueben. Sie injizierten das Blut von 15 Leicht- und Schwertuberkulösen auf Kaninchen und zum Teil auch auf Meerschweinchen, ohne bei irgendeinem Tier eine Impftuberkulose zu erzielen. Das Blut der 15 Patienten enthielt vorher, nach der Schnitterschen Methode, säurefeste Stäbchen. Ebenso fanden sich im Blut von 8 sicher Gesunden säurefeste Stäbchen, wie auch im Blut sicher nicht tuberkulöser Kaninchen. Somit fanden die Untersucher in jedem von ihnen daraufhin untersuchten Blut säurefeste Stäbchen, sei es von Mensch oder Tier. Bacmeister und Rueben kommen als erste zu dem Schluß, daß die Stäubli-Schnittersche Methode keine einwandfreien Resultate liefert, sondern daß durch die chemische Einwirkung von Essigsäure und Antiformin Gebilde entstünden, die säurefest seien und Tuberkelbacillen vortäuschen könnten.

Von L. Rabinowitsch ist schon der Ausfall der Tierversuche im Kaninchen als Versuchstier als nicht beweiskräftig bezeichnet worden. Wenn auch Bacmeister erwiderte, daß der von ihm verwendete Kaninchenstamm den Tuberkelbacillus vom Typus humanus prompt angehen lasse, so muß doch der Einwand gemacht werden, daß nach den Tuberkuloseuntersuchungen des kais. Gesundheitsamts u. a. Kaninchen zur Beurteilung des Typus humanus nicht geeignet sind, zumal bei der sehr geringen Anzahl und der abgeschwächten Wirkung der mit dem Blut eingespritzten Tuberkelbacillen. Die Ergebnisse bei Meerschweinchen dagegen stimmen mit unseren vollkommen überein.

Weiter führt der Fund von säurefesten Stäbchen im Blut und somit auch in den Organen von völlig normalen Kaninchen die Behandlung der Tierorgane, wie sie Sturm und Kennerknecht handhabten, ad absurdum.

Auch E. Rosenberg stellte solche Untersuchungen am Blut Tuberkulöser und Gesunder an. Leider untersuchte er dieselben nur mikroskopisch, ohne Tierversuche anzustellen. Bei Gesunden fand er nie, bei Anwendung der Schnitterschen Technik, säurefeste Bacillen, aber bei Lungentuberkulösen, Tuberkuloseverdächtigen und chirurgischen Tuberkulosen in fast jedem Fall. Er hebt besonders einen Fall von Hoden- und Nebenhodentuberkulose hervor, der vor der Exstirpation Bacillen im Blute aufwies, während sie nach der Herausnahme (14 Tage nachher) verschwunden waren.

Zum Schluß dieser Aufzählung möchte ich noch 3 Arbeiten erwähnen, die vielleicht neues Licht auf Untersuchungen dieser Art werfen könnten. Schon 1891 erwähnte Liebmann, daß er in 9 Fällen von Tuberkulose nach einer oder mehreren Injektionen von Tuberkulin im Blut der Patienten Tuberkelbacillen nachgewiesen habe, während solche vor den Einspritzungen nicht zu finden gewesen seien.

Jetzt erschienen fast gleichzeitig 2 Arbeiten von L. Rabinowitsch und Bacmeister, in denen sie das gleiche beobachtet haben wollen. Rabinowitsch nimmt an, daß die Ansicht, die Virchow und nachher Orth schon vor 22 Jahren vertraten, von der „Mobilisierung" der Bacillen durch Tuberkulin zu Recht bestände. Während vorher keine Bacillen im Blute nachgewiesen waren, wurden sie nach Tuberkulinbehandlung „in Häufchen liegend" vorgefunden. In einem Fall wurde das Blut weitergeimpft. Während ein tuberkulöses Kaninchen vor der Injektion keine Bacillen im Blute hatte und keine Impftuberkulose gezeigt hatte, wies ein anderes tuberkulöses Tier nach der Einspritzung Bacillen im Blut und typische Impftuberkulose auf.

Sie hält auch, wie schon oben erwähnt, die Mobilisierung der Bacillen durch den Pirquetschen Eingriff in den Versuchen von Suzuki und Takaki für wahrscheinlich.

Bacmeister kommt zum gleichen Resultat. Bei wiederum 15 leichteren Tuberkulosefällen fand er in jedem Blut säurefeste Stäbchen, die morphologisch Tuberkelbacillen gleichen sollen, während die Tierversuche negativ blieben. Das Resultat änderte sich, als er den Patienten Tuberkulin injizierte und auf der Höhe der Reaktion Tierversuche

ansetzte. 4 Tiere zeigten typische Impftuberkulose, so daß er unter 30 Tierversuchen 4 positive (= 13,3 Proz.) hatte. Die in der früheren Arbeit bei Kaninchen und Meerschweinchen gefundenen säurefesten Bacillen hält er für „Fütterungsbacillen".

An Tieren (2 Kühen mit beginnender offener Lungentuberkulose) hat zuerst Broll das Blut auf Tuberkelbacillen untersucht. Er fand in beiden Fällen säurefeste Stäbchen im mikroskopischen Präparat. Tierversuche wurden von ihm nicht angestellt.

An tuberkulösen Pferden, Ochsen, Kühen, Meerschweinchen hat Mammen diese Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen im Blut näher studiert. Er fand solche in 12 von 15 Fällen = 80 Proz. Auch Tierversuche stellte er an, die in einzelnen Fällen positiv ausfielen. Er zieht den Schluß, daß der mikroskopische Nachweis der Tuberkelbacillen im Blut von nicht zu unterschätzender diagnostischer Bedeutung sei.

Neumann und Wittgenstein teilen mit, daß sie bei Hunden intravenös injizierte Tuberkelbacillen noch nach 35 Tagen im Blutstrom nachweisen konnten. Sie sind der Ansicht, daß Blut keinen virulenzherabsetzenden Einfluß auf die Bacillen ausübt.

Ueberblickt man diese jüngeren Arbeiten nochmals, so fällt da, wo gleichzeitig mikroskopische Untersuchung und Tierversuch nebeneinander gemacht wurden, der nicht unbedeutende Unterschied des Ausfalls der beiden Untersuchungsarten auf. Die positiven Fälle sind bei Anstellung des Tierversuchs stets geringer als bei der mikroskopischen Untersuchung. Schon Liebermeister war das aufgefallen. Er sucht es damit zu erklären, daß entweder die Bacillen schon abgetötet in den Tierkörper gelangen, oder daß gleichzeitig immunisierende Substanzen mit eingespritzt werden, die zugleich das Tier immunisieren. Er folgert aus diesem Verhalten, daß der Tierversuch zwar ein sicheres Reagens auf die Anwesenheit der Tuberkelbacillen darstellt, aber zu wenig empfindlich ist. Bacmeister auf der anderen Seite spricht, wie schon oben bemerkt, als erster die Vermutung aus, daß die säurefesten Gebilde im mikroskopischen Präparat gar keine Tuberkelbacillen seien, zumal seine Tierversuche alle negativ ausfielen. Er nimmt an, daß es irgendwelche durch die chemische Behandlung des Blutes entstandene Substanzen seien, die die Tuberkelbacillen vortäuschen. Diese Annahme wird gestützt durch die jüngst erschienene Arbeit von Ed. Kahn. Er behauptet auf Grund diesbezüglicher Versuche, daß das in den Blutkörperchenhüllen enthaltene Cholesterin und Lezithin säurefest sei, und so Anlaß zu Täuschungen geben könne. Allerdings seien diese Substanzen nicht sehr intensiv rot färbbar (mehr oder weniger rosa), aber doch so deutlich säurefest, daß sie mit säurefesten Tuberkelbacillen verwechselt werden können. Er behauptet, daß sonderbarerweise diese säurefesten Gebilde meist in Stäbchenform im Präparat zu sehen seien.

Der eine von uns (R.) hat diese Angaben nachgeprüft. Er versetzte Citratblut einmal mit einer kleinen Menge einer Reinkultur von Tuberkelbacillen, dann mit einer Spur reinen Lezithins, und verarbeitete das sorgfältig im Mörser zerriebene Gemisch nach der Stäubli-Schnitterschen Methode. Dieser Versuch wurde angesetzt, um zu erweisen, ob Lezithin an sich schon säurefest ist, und ob es — der Färbung nach — mit Tuberkelbacillen verwechselt werden könne. Ueber die Verwechslung des Lezithins konnte man natürlich nach dieser Versuchsanordnung nichts aussagen. Im mikroskopischen Präparat sah man neben deutlich säurefesten, leuchtend rot gefärbten Tuberkelbacillen, rosa gefärbte Schollen von Lezithin, die also, entsprechend der Angabe Kahns, schwachsäurefest waren. Zu verwechseln waren sie in keiner Weise mit Tuberkelbacillen. Denn während die rotgefärbten Bacillen einen matten Farbton gaben, waren die Lezithinschollen glänzend, schwach lichtbrechend und doppelt konturiert. Doch muß zugegeben werden, daß in einem Fall nicht gesagt werden konnte, ob das säurefeste Stäbchen ein Tuberkelbacillus oder eine Lezithinscholle war.

Vom Cholesterin glauben wir auch, daß es in gewissem Grade säurefest ist, denn in einer Arbeit Löwes ist die Beobachtung Overtons angeführt, wonach sich Cholesterin in der Siedehitze intensiv mit Anilinfarben färbt, demnach wahrscheinlich auch säurefest ist.

Nach den Untersuchungen Kahns sollen auch Fibrinflocken (aus Hammel- oder Pferdeblut) und Eiweißglyzerin säurefest sein, wonach das Fibrin bei diesen Blutuntersuchungen auch zu Täuschungen Anlaß geben könnte. Somit wäre nach Kahns Ansicht nur der richtig vorgenommene und richtig gedeutete Tierversuch maßgebend.

Eigentlich gar nicht zur Sache gehörend, aber doch erwähnenswert erscheint uns eine jüngst erschienene Mitteilung von Bontemps, daß Lycopodium ebenfalls säurefest sei, dessen Sporen durch das Antiforminverfahren besonders leicht zerfallen sollen. Besonders bei Sputumpräparaten ist bei Ziehlscher Färbung stets daran zu denken.

Bei unseren eigenen Untersuchungen fiel uns schon immer auf, daß sich im mikroskopischen Präparat, besonders bei sehr schweren Fällen, immer säurefeste Gebilde in Kugel- oder Tropfenform zeigten. Nur ganz ausnahmsweise erinnerten sie an Stäbchen, die aber, nach dem oben Gesagten, leicht von säurefesten Bacillen zu unterscheiden waren. Wir sind geneigt, diese säurefesten Gebilde, nach Kahns Vorgang, ebenfalls als Lezithin-, Cholesterin- oder ähnliche Seifen anzusprechen. Wir denken uns den Vorgang so, daß die angegebenen Substanzen in der Siedehitze der Ziehlschen Färbung in Lösung gehen, sich färben und nachher in Kugel- oder Tropfenform sich wieder niederschlagen. Eine Stütze dieser Anschauung sehen wir darin, daß in Bluten, in denen nachgewiesenermaßen der Lezithingehalt erhöht ist, wie sich z. B. auch durch positiven Ausfall der Wassermannschen Reaktion zeigt, solche säurefesten Gebilde in vermehrter Zahl zu finden waren. Wir sahen sie im Blut von Schwangeren, bei Miliartuberkulose und bei florider Lues. Daß diese Gebilde keine Farbstoffniederschläge sind, wie auch wir anfangs vermuteten, beweist folgender Kontrollversuch: Wenn man Bacillen von einer Tuberkelbacillenreinkultur auf vorbehandeltem Objektträger mit derselben, durch dasselbe Filter gelaufenen Farblösung, genau wie das Blutpräparat, färbt, sieht man diese säurefesten Gebilde nicht, die übrigens auch in Sputumpräparaten oft zu finden sind.

Trotzdem, wie gesagt, diese Gebilde von Tuberkelbacillen durch Verschiedenheit der Form und Färbung unschwer zu unterscheiden sind, glauben wir dennoch, daß sie manchmal zu Verwechslungen und Täuschungen geführt haben. So z. B. vermuten wir stark, daß in dem Fall, bei dem Kurashige in einem Gesichtsfeld 30 Bacillen gesehen haben will, sicher mindestens die Mehrzahl der säurefesten Gebilde Kunstprodukte waren. Vielleicht gilt dasselbe bei dem Bacillenzopf, den Liebermeister beobachtet haben will. Rumpf berichtet von den säurefesten Stäbchen bei seinen ersten Versuchen folgendes: „aber wir bekamen keine gut gefärbten Stäbchen und Bilder, wie wir sie vom Sputumpräparat gewohnt waren und für einen positiven Befund verlangen zu müssen glaubten. Recht oft fanden wir Stäbchen, aber sie erschienen uns nicht einwandfrei nach Gestalt und Färbung.“ Auch bei diesem Bericht glauben wir sicher, daß es sich zum Teil um die oben beschriebenen Gebilde handelte.

Nach diesen längeren Ausführungen wollen wir zu unseren eigenen Untersuchungen übergehen.

Bei der Anstellung der Tierversuche gingen wir folgendermaßen vor:

Wir ließen in ein Reagenzglas, mit ca. 10 ccm einer 2-proz. Natriumcitratlösung, ungefähr 25 ccm des zu untersuchenden Blutes laufen. Durch fortwährendes, leichtes Schütteln des Glases wurde die Gerinnung verhindert. Dieses Gemenge wurde bei 2 jungen Meerschweinchen geprüft, und zwar wurden in jede Leistengegend den Tieren subkutan je 5 ccm des Blutcitratgemisches injiziert. Wir verlangten von einem positiven Fall, daß er den Typus der Impftuberkulose zeigte, d. h. eine von der Impfstelle ausgehende den Lymphbahnen entlang fortschreitende Tuberkulose aufwies. Nur auf diese Weise kann man mit Sicherheit jede Spontaninfektion ausschließen. Die Drüsen wurden vorher nicht gequetscht. (Zu erwähnen ist, daß unser Tierstall frei von Tuberkulose ist.) Nach 4 Monaten wurden die Tiere geschlachtet und nachgesehen, ob eine deutlich sichtbare, augenfällige Impftuberkulose vorhanden war. Waren verdächtige Knötchen in irgendeinem Organ zu bemerken, so wurden die Organe entweder wieder auf Meerschweinchen weiter verimpft oder das betreffende Organ geschnitten und peinlichst durchuntersucht. Zu bemerken ist, daß nach der Citrat-Blutinjektion die Inguinaldrüsen leicht anschwellen, nach ca. 4—5 Tagen aber wieder zur Norm zurückkehren.

Zum Anfertigen des mikroskopischen Präparats wurde das übrige Blut (ca. 5—10 ccm) nach der Stäubli-Schnitterschen Methode verarbeitet.

Die 5—10 ccm Citrat-Blutgemische wurden mit der gleichen Menge 1-proz. Essigsäure versetzt, $^1/_2$ Stunde unter leichtem Umrühren stehen gelassen, bis das Blut schwarz und nicht mehr lackfarben aussah. Darauf wurde $^1/_2$ Stunde scharf zentrifugiert, der Bodensatz mit 30 ccm 15-proz. Antiformins versetzt und das Zentrifugenglas in den Brutschrank gestellt. Nach spätestens 10 Minuten muß der Bodensatz unter Gasbildung völlig gelöst sein. Die Farbe der Flüssigkeit ist dann hellgelb geworden. — Es erscheint uns wichtig darauf hinzuweisen, daß Säure- und Antiformingehalt möglichst genau aufeinander eingestellt sein müssen, da man sonst einen hinderlichen Niederschlag erhält, der das Weiterarbeiten unmöglich macht. — Der mit Antiformin gelöste Bodensatz wird nun $^3/_4$—1 Stunde scharf zentrifugiert, der kaum sichtbare Niederschlag 2mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und der minimale Bodensatz mit dem letzten Tropfen Flüssigkeit auf den vorbehandelten Objektträger aufgetragen. Das Präparat läßt man lufttrocken werden, fixiert es in der Flamme und färbt nach Ziehl-Neelsen. Es ist darauf zu achten, daß das Präparat vor der Färbung nicht mit Fließpapier abgetupft werden darf. Was vor allem Liebermeister betont hat betreffs Ausschaltung anderer säurefester Bacillen, muß peinlichst eingehalten werden. Alle Gegenstände (Objektträger, Pipetten, Glasspritzen, Reagens- und Zentrifugengläser, Schalen etc.), die zur Herstellung der Präparate oder zum Tierversuch verwendet werden, müssen in konz. Schwefelsäure aufbewahrt werden. Einfaches Sterilisieren oder Auskochen genügt nicht, wie wir öfters nachweisen konnten. Als Spülwasser darf nur ganz frisch destilliertes Wasser verwendet werden. Ebenso muß die jedesmal neu mit frisch destilliertem Wasser hergestellte Citratlösung mindestens 1 Stunde im Dampftopf sterilisiert werden.

Hält man an allen diesen Kautelen strikt fest, so ist mit Sicherheit das Einschleichen anderer säurefester Bakterien ausgeschlossen.

Es könnte noch der Einwand gemacht werden, daß die 2-proz. Citratlösung die Bakterien abtötete und dadurch das Blut ungeeignet zum Tierversuch machte.

Um diesem Einwand zu begegnen, impften wir 30 ccm Blut + Citrat mit einer Spur Tuberkelbacillen aus einer Reinkultur, und ließen dasselbe ca. 12 Stunden im Brutschrank stehen. Das Tier starb ca. 1 Monat nach erfolgter Injektion an typischer, aufsteigender Impftuberkulose. Es ist ja auch bekannt, daß eine 2-proz. Citratlösung auch auf die Lebensfähigkeit von so empfindlichen Lebewesen wie Trypanosomen oder Spirochäten keinen merkbaren Einfluß ausübt.

Alle unsere Präparate wurden zu unserer eigenen Kontrolle von mehreren Kollegen nachgesehen, und erst nach einstimmigem Dafürhalten das Präparat für positiv oder negativ erklärt.

Auch Leerversuche haben wir in größerer Anzahl angestellt.

Wir lassen nun die Protokolle unserer eigenen Untersuchungen folgen (s. Tab. p. 487—489).

Aus diesen Protokollen geht hervor, daß wir keinen einzigen positiven Tierversuch erhalten haben, außer — wie zu erwarten war — in dem Kontrollversuch mit Miliartuberkulose. Im mikroskopischen Präparat fanden wir bei Kranken des I. Stadiums überhaupt keinen säurefesten Bacillus. Es scheint uns hier am Platze, auszuführen, welche Gebilde wir bei unseren Untersuchungen überhaupt als säurefeste Bacillen angesehen haben. Als solche wurden nur solche Stäbchen angesehen, die vollkommen in Gestalt, Färbung, Körnelung und vor allem Lichtbrechung und Konturierung den Tuberkelbacillen im Sputum glichen. Jedes größere, kleinere, plumpere oder anders lichtbrechende Gebilde wurde nicht als positiv angesprochen. Ob diese Stäbchen aber überhaupt echte Tuberkelbacillen waren, wagen wir nicht zu behaupten, denn wir haben durch den positiven Tierversuch keinen gültigen Beweis dafür. Als Kuriosum erwähnen wir, daß in einem Blute von einem gesunden Menschen ein Stäbchen völlig als echter Tuberkelbacillus imponiert hat und merkwürdigerweise auch der Tierversuch zunächst stark positiv erschien, bis eine histologische und bakteriologische Untersuchung zeigte, daß es sich um Pseudotuberkulose handelte. Ob allerdings diese Pseudotuberkelbacillen sich im Blute des Betreffenden befunden haben, oder ob sie erst bei der Injektion sekundär hereinkamen, können wir nicht entscheiden. Liebermeister glaubt allerdings nicht, daß primär irgendwelche säurefeste Bacillen im Blute kreisen. Auszuschließen ist das jedoch keineswegs.

Auch den Vorwurf, der vielleicht gegen uns erhoben werden könnte, wir hätten zu kurze Zeit über den Präparaten gesessen, können wir mit der Versicherung zurückweisen, daß wir im Mittel 3 Tage = 15 Stunden zur Durchmusterung eines Präparates verwendeten, wie ähnlich auch Liebermeister u. a. anempfohlen haben.

Betrachten wir den Ausfall der Untersuchungen von Bluten II. Stadiums, so sehen wir, daß wir in 13 Proz. säurefeste Stäbchen gefunden haben. Auch hier sind alle Tierversuche negativ ausgefallen. Die Hauptzahl der positiven Fälle hatten wir bei Bluten III. Stadiums, also bei äußerst schweren Fällen, nämlich 60 Proz., auch ohne positiven Tierversuch. Wir können also aus diesen Befunden folgern, daß, wenn wirklich diese Stäbchen im Blut Tuberkelbacillen sind, der Bacillenfund mit der Schwere der Krankheit parallel geht.

Weiterhin sahen wir, daß die Blute, die von chirurgischen Kranken stammten, die an Knochen- und Knochenmarkstuberkulose litten, in beiden untersuchten Fällen im mikroskopischen Präparat

Protokolle[1]):

Fall	Tier No.	Herkunft	Mikroskopische Blutuntersuchung	Tierversuch: Datum der Injektion	Tierversuch: Datum der Tötung	Tierversuch: Result. d. Tiervers.	Stadium der Tuberkulose	Klinische Diagnose
I	296 298	Abteilung Cahn	0	15. Jan. 1912	26. Sept. 1912	0 0	I	Infiltr. apicis sinist.
II	297 299	„	0	15. Jan. 1912	26. Sept. 1912	0 0	I	Leichte Dämpfung der linken Spitze
III	169 170	Medizin. Klinik	0	26. Jan. 1912	5. Mai 1912	0 0	I	Nephritis, leichte Affekt. der rechten Spitze
IV	633	„	0	28. Jan. 1912	20. Juli 1912	0	II	Mittelschwerer doppelseitiger Spitzenkatarrh
V	227 228	„	0	7. Febr. 1912	27. Juli 1912 7. Aug. 1912	0 0	I	Linksseitiger Spitzenkatarrh
VI	229 230	„	0	7. Febr. 1912	5. Juni 1912 31. Mai 1912	0 0	I	Leichte Affekt. der rechten Spitze
VII	221 232	„	0	7. Febr. 1012	25. Sept. 1912 22. Juli 1912	0 0 Gest. an Darmleiden	—	Tuberkuloseverdacht
VIII	264 245	„	0	23. Febr. 1912	25. Sept. 1912	0 0	I	Spitzenaffektion (starke Reaktion auf Tuberkulin)
IX	248 222	„	0	23. Febr. 1912	22. Okt. 1912 25. Sept. 1912	0 0	II	Affect. ap. sin.; starke Reaktion auf Tuberkulin
X	671 672	Haemoptoeblut Frau G.	0	1. April 1912	3. April 1912 gest. a. Sepsis 2. April 1913 gest. a. Sepsis	? ?	I	Affect. apicis dupl.
XI	828 829	Medizin. Klinik	0 Much + ?	14. April 1912	10. Okt. 1912	0 0	II	Periton. chron. tbc. Pleuritis tbc. Infiltr. ap. dextr. Catarrh. ap. sin. Pirquet ++
XII	836 837	„	0	24. April 1912	25. Sept. 1912 26. Sept. 1912 gestorben an Pneumonie	0 0	I	Tub. pulmon.
XIII	838 839	Frau K. S.	0	24. April 1912	15. Okt. 1912	0 0	I	Affect. ap. dextr.
XIV	856 857	Medizin. Poliklinik	0	7. Mai 1912	31. Juli 1912 17. Okt. 1912	0 0	I	Affect. ap. dextr.
XV	867 869	Poliklinik	0	13. Mai 1912	22. Okt. 1912	0 0	I	Affect. ap. sin.
XVI	865 866	„	0	13. Mai 1912	17. Okt. 1912	0 0	II	Bronchitis tbc. lob. sup. sin. Röntgenbild: Bestätigung.

1) Ausführliche Protokolle werden demnächst in einer Dissertation von Charon erscheinen.

Fall	Tier No.	Herkunft	Mikroskopische Blutuntersuchung	Tierversuch: Datum der Injektion	Tierversuch: Datum der Tötung	Tierversuch: Result. d. Tiervers.	Stadium der Tuberkulose	Klinische Diagnose
XVII	76 77	Poliklin. Sput. +	Much + Ziehl 0	16. Mai 1912	18. Jan. 1913	0 0	II	Affect. apicis dupl. Röntgen: auch recht. Seite u. Hilus
XVIII	78 79	Poliklin. Sput. +	0 0	16. Mai 1912	24. Okt. 1912	0 0	I	Affect. ap. sin.
XIX	87 88	Poliklin.	0 0	20. Mai 1912	24. Okt. 1912	0 0	I	Phthisis pulm.
XX	85 86	Poliklin. Sput. +	Much + Ziehl 0	20. Mai 1912	19. Okt. 1912	0 0	II	Tbc. pulmon. Schwarte l. h. u.
XXI	961 962	Abtlg. Cahn	Ziehl + Much +	11. Juni 1912	20. Juni gest. an interkurr. Krankheit 18. Okt. 1912	? 0	II	Affect. ap. sin.
XXII	963 964	Poliklin.	Much + Ziehl 0	11. Juni 1912	19. Okt. 1912 am 22. Juni gest. an interkurr. Kht.	0 ?	III	Tbc. III. Stad.
XXIII	965 966	„	0 0	14. Juni 1912	5. Nov. 1912	0 0	I	Affect. ap. dupl. Pleuritis † 9. Juli 1912
XXIV	967 968	Abtlg. Cahn	Much + Ziehl +	15. Juni 1912	22. Nov. 1912	0 0	III	Phthisis pulm., Pleuritis
XXV	861 871	Poliklin. Sputum +	Much + Ziehl 0	21. Juni 1912	23. Nov. 1912	0 0	III	Tbc. pulm. R. h. o. große Kaverne. L. Oberlapp. erkrankt. Kleine Herde, zahlreiche Kavernen
XXVI	969 975	Poliklin. Sput. +	Much + Ziehl +	21. Juni 1912	23. Nov. 1912	0 0	III	Phthisis pulm. Pyopneumothorax. l. † 1. Dez. 1912
XXVII	1009 1010	Poliklin.	0	5. Juli 1912	15. Nov. 1912 10. Sept. 1912	0	II	Phthisis pulm. der rechten Seite
XXVIII	1011 1012	Abtlg. Cahn	0	5. Juli 1912	12. Nov. 1912	0 0	III	Tb. pulm. III. Stad. Röntgen: Diffus großfleck. Prozeß üb. ganz. Lungen-Oberlappen, links Kavernen
XXIX	1013 1014	„ Sput. +	Much + Ziehl 0	5. Juli 1912	8. Nov. 1912	0 0	II	Tb. pulm. utr. bes. lob. sup. sin. Röntgen: Infiltr. beid. Spitz. Kavern. links
XXX	1026 1027	Poliklin. Sput. +	Much + Ziehl +	18. Juli 1912	27. Nov. 1912	0 0	III	Phthisis pulmon. Kavernen. Hautabszesse. Röntgen: Kavernen. † 30. Juli 1912
XXXI	1028 1029	Poliklin. Sput. +	Much + Ziehl 0	18. Juli 1912	3. Okt. 1912 an interkurr. Kht. gest. 27. Jan. 1913	0 0	II	Tb. pulm. bes. Infiltr. der rechten Seite

Fall	Tier No.	Herkunft	Mikroskopische Blutuntersuchung	Tierversuch: Datum der Infektion	Tierversuch: Datum der Tötung	Tierversuch: Result. d. Tiervers.	Stadium der Tuberkulose	Klinische Diagnose
XXII	1032	Poliklin. Sput. +	Much + Ziehl +	19. Juli 1913	21. Juli 1912 a. Sepsis gest.	?	III	Phthisis adhaes. l. Lungenaffekt. ap. dextr. Röntgen: Ausgedehnte diffus knotige Infiltr.
	1033				20. Nov. 1912	0		
XXIII	1043	Poliklin.	Much 0 Ziehl +	24. Juli 1913	27. Nov. 1912	0	—	Schmerzen i. Rücken und Rippengegend. Mitralinsuff. Tuberkul.-Verdacht
	1044					0		
XXIV	1156	„	Ziehl +	5. Nov. 1912	29. Jan. 1913	0	III	Tbc. lob. inf. pulm. sehr schwer
	1157					0		
XXV	1158	„	0	5. Nov. 1912	29. Jan. 1913	0	II	desgl. mittelschwer
	1159					0		
XXVI	1160	„	Ziehl +	5. Nov. 1912	29. Jan. 1913	0	II	Affect. ap. uteriusque
	1161					0		
XXVII	1246	„	0	3. Dez. 1912	4. März 1913	0	II	desgl.
	1247					0		
XXVIII	1248	„	0	3. Dez. 1912	6. März 1913	0	II	Oberlappen- und Larynxphthise
	1249					0		
XXIX	1250	„	0	3. Dez. 1912	6. März 1913	0	II	Tub. lob. inf. pulm. mittelschwer
	1301				12. März 1913	0		
L	1302	„	0	3. Dez. 1912	12. März 1913	0	III	Ausgedehnte linksseit. Tub. alteration
	1303					0		
LI	1304	„	Ziehl +	3. Dez. 1912	6. März 1913	0	III	desgl. sehr schwer
	1305					0		
LII	1341	„	0	12. Dez. 1912	12. März 1913	0	I	Beginnende Spitzenaffektion l. Peribronchitis tub. v.
	1342					0		
LIII	1403	„	0	19. Dez. 1912	3. April 1913	0	III	Schwangerschaft u. schwere Lungenphthise
	1404				12. März 1013	0		
LIV	1501	Abtlg. Stolz, Chirurg.	Ziehl +	21. Jan. 1913	3. April 1913	0	Chirurg.	Gonitis tub. Fisteln, Knochen-u. Kapselverdickung
	1502					0		
LV	1503	Abtlg. Stolz, Chirurg.	Ziehl +	21. Jan. 1913	3. April 1913	0	Chirurg.	Gonitis tub. und Fisteln
	1504					0		
LVI	1505	Poliklin.	0	21. Jan. 1913	6. April 1913	0	I	Affect. apic. dextr.
	1506					0		
				Kontrollen:				
Kl.	80	Blut + Spur Reinklt. v. Tub.-Bac.	Ziehl +	16. Mai 1912	20. Juni gest.	+		—
KR.	1143	Blut von einem Gesunden	Ziehl +	28. Okt. 1912	18. Jan. 1913	0		Gesunder Mensch
	1144				21. Feb. 1913 gest.	Impf-pseudo-tuberkulose!		
XVII	1622	Poliklin.	Ziehl +	3. März 1913	12. März 1913	+		Miliartuberkulose
	1623				11. April 1913	+		

positiv ausfielen. Leider war es uns aus äußeren Gründen nicht möglich, dieser Frage an einer größeren Anzahl von Fällen näherzutreten.

Ausdrücklich möchten wir betonen, daß wir die ausgerechneten Prozentzahlen bei unseren Untersuchungen durchaus nicht für absolut ansehen, dafür sind die Zahlen viel zu niedrig, sondern wir haben sie nur niedergeschrieben analog der Schreibweise der meisten anderen Untersucher.

Weiterhin hat der eine von uns (R.), nicht zum Zweck der Prüfung, sondern nur zur Orientierung, die Blute verschiedener Tiere untersucht, bei denen man zum Teil vermuten konnte, daß mit der Nahrung sogenannte säurefeste „Fütterungsbakterien" ins Blut kommen könnten, wie dies schon früher bei anderen Bakterien nachgewiesen worden ist, und wie dies auch bei den Säurefesten L. Rabinowitsch und Bacmeister vermuten. Die Resultate sind, wie aus der Uebersichtstabelle zu ersehen ist, völlig negativ. Allerdings ist dieser Ausfall, bei der geringen Anzahl der untersuchten Fälle, durchaus nicht beweisend, und wir geben gerne zu, daß die Möglichkeit vorhanden sein mag, daß gelegentlich einmal säurefeste Bakterien, z. B. beim Kaninchen, ins Blut gelangen. Doch soll man, nach L. Rabinowitsch, die Fütterungsbacillen oder echten Tuberkelbacillen unschwer unterscheiden können.

Allerdings möchten wir darauf hinweisen, daß man bei der Beurteilung der Bacillen im Tierblut besonders vorsichtig sein muß; denn, nach unseren Erfahrungen kommen in diesem viel mehr säurefeste Gebilde vor, die Tuberkelbacillen vortäuschen können, als im Menschenblut. Was diese Gebilde sind, darüber wollen wir keine Hypothesen aufstellen.

Tierversuche haben wir mit Tierblut nicht angestellt.

Außerdem möchten wir bemerken, daß wir auch die Muchsche Färbung in ungefähr 25 Fällen neben der Ziehl-Neelsenschen angewandt haben. Wir sind aus demselben Grunde, wie Liebermeister, wieder davon abgekommen, da wir die Muchschen Granula gewöhnlich da fanden, wo auch nach der Ziehlschen Methode Stäbchen zu erkennen waren. Hauptsächlich aber deshalb, weil Granula an sich zu unsicher zur exakten Diagnosestellung sind, und man nie mit Sicherheit entscheiden kann, ob man jetzt wirklich Tuberkelbacillengranula oder anderweitige Niederschläge vor sich sieht.

Auf Grund unserer Untersuchungen kommen wir zu folgenden Resultaten:

1) Die Verarbeitung des Blutes mittels der Stäubli-Schnitterschen Methode zur Herstellung eines mikroskopischen Präparates liefert unsichere Bilder, indem sie uns nicht nur echte Tuberkelbacillen, sondern auch andere säurefeste Stäbchen, und vor allem Kunstprodukte zeigt, die durch die Behandlung des Blutes entstehen und manchmal Tuberkelbacillen vortäuschen können.

2) Für den Nachweis der Tuberkelbacillen im Blut bleibt also als einziges sicheres Kriterium nur der richtig vorgenommene und richtig gedeutete Tierversuch.

3) Von 46 untersuchten Blutproben Tuberkulöser aller Stadien lieferte nur 1, welche eine Miliartuberkulose betraf, ein positives Impfresultat. Dagegen fanden sich in 12 Fällen in nach Ziehl-Neelsen gefärbten Präparaten verdächtige säurefeste Stäbchen, und zwar nahm

Uebersicht der hauptsächlichsten Arbeiten.

	Autoren	Untersuchte Fälle	Anzahl	Mikrosk. Präparat positiv	%	Art der Verarbeitung	Positive Tierversuche	%
1	Weichselbaum	Miliartbk.	?	3	—	Ziehl	Kein Tierversuch	
2	Meissel		8	—	12,5	Kein Bacillennachweis	1	
3	Hildebrand	Lungentbk. mit Erythema nodosum		—	—	dgl.	1	
4	Huguenin	Tbk. Frühgeburt		—	—	„	1	
5	Stricker		100	—	—	„	1	1
6	Gary		35	—	—	„	5	14
7	Bergeron		36	—	—	„	2	7,7
8	Lüdke	Sehr schwere Fälle	14	—	—	„	3	21,5
9	Kormoczi u. Jassniger		4	—	—	„	1	25
10	Schmorl und Geipel	Tbk. Erkrankung der Placenta	?	—	—	„	9	
		Miliartbk.	?	—	—	„	1	
		Tbk. — Meningitis	?	—	—	„	1	
		Lungentbk. I. Stad.	?	—	—	„	5	
		„ II. „	?	—	—	„	1	
		„ III. „	?	—	—	„	1	
							18	
11	Jousset	Lungentbk. II. Stad.	20	8	40	Inoskopie	Positive Tierversuche	31
		„ III. „	15	3	20			
		Primäre Bacillämie	3	3	100			
			38	14	50			
12	Krause (I. Mitteilung)	Lungentbk. II. Stad.	16	2	12,5	Inoskopie nach Jousset	Kein Tierversuch	
		„ III. „	16	9	56			
			32	11	34			
	(II. Mitteilung)	Lungentbk. I. Stad.	55	0	0	Antiformin	Dgl.	
		„ II. „	31	6	19			
		„ III. „	46	27	59			
			132	33	25			
13	Schnitter	Lungentbk. I. Stad.	8	0	0	Antiformin 15 %	„	
		„ II. „	9	2	22	Schnitter-Ziehl		
		„ III. „	17	8	47			
		Tbk. anderer Organe	4	2	50			
			38	12	31,6			
14	Lippmann	Lungentbk. I. Stad.	1	0	0	Antiformin 15 %	„	
		„ II. „	9	3	33	Schnitter-Ziehl		
		„ III. „	15	8	53			
			25	11	44			
15	Rosenberger	Miliartbk.	5	5	100	Citrat	Keine Tierversuche	
		Fibröse Tbk.	2	2	100	Antiformin		
		Pneumothorax	15	15	100	Ziehl		
		Initiale Tbk.	23	23	100			
		Mäßig fortgeschr. Tbk.	1	1	100			
		Kehlkopftbk.	3	3	100			
			49	49	100			

	Autoren	Untersuchte Fälle	Anzahl	Mikrosk. Präparat positiv	%	Art der Verarbeitung	Positive Tierversuche	%
16	Jessen u. Rabinowitsch	Lungentbk. vom I. bis III. Stad. I / II / III	36 (12 / 12 / 12)	12 (4 / 2 / 6)	33	Antiformin 15 % Schnitter-Ziehl-Much-Weiss	Keine Tierversuche	
17	Hilgermann u. Lossen	Lungentbk. I. Stad.	12	3	25	Antiformin 15 % Schnitter-Ziehl	Dgl.	
		„ II. „	28	7	25			
		„ III. „	24	7	29			
			64	17	25			
18	Forsyth	Offene Tbk. der Lunge	10	10	100	Antiformin	„	
		Geschloss. Tbk. d. „	2	0	0			
			12	10	83			
19	Acs-Nagy	Lungentbk. II. Stad.	2	1	50	Antiformin	„	
		„ III. „	22	10	45			
			24	11	45			
20	Kurashige I. Mitteilung	Lungentbk. I Stad.	35	35	100	konzentr. Antiformin Schnitter-Ziehl	bei Kaninchen 8, bei Meerschweinchen 4	
		„ II „	65	65	100			
		„ III. „	55	55	100			
			155	155	100			
		Gesunde	34	20	59			
	II. Mitteilung	Lungentbk. I. Stad.	6 (8× in 12 Wochen)	6 (8× in 12 Wochen)	100	konzentr. Antiformin Schnitter-Ziehl		
		„ II. „	8	8	100			
		„ III. „	6	6	100			
			114	104	91,2			
	III. Mitteilung	Milch tbk. Frauen im III. Stad.	2	2	100	Stäubli-Schnitter, Laktobutyrometrie, Ziehl	Kein Tierversuch	
		„ II. „	5	5	100			
		„ Vor- u. I. Stad.	13	10	76,9			
			20	17	85,0			
		Milch gesunder Frauen Tb-Bacillen	2 im Blut	0 in d. Milch	0			
		bei Frauen im III. Stad.	1	1	100			
		„ „ „ II. „	4	4	100			
		„ „ I. St. u. Vorst.	9	6	66,7			
		bei gesunden Frauen	0	0	0			
			14	11	78,6			
				Ziehl / Much	Ziehl / Much			
21	Sturm	Lungentbk. I. Stad.	10	2 / 4	20 / 40	Antiformin, Schnitter, Ziehl	5	50
		„ II. „	16	3 / 6	19 / 38		6	38
		„ III. „	24	6 / 11	25 / 48		12	50
		Gesunde	10	0	0		23	46
			60	11 / 21	22 / 42			
22	Suzuki und Takaki	Lungenkranke	517	471	98,5	Antiformin 30 % Schnitter-Much-Gasis-Hermann	Kein Tierversuch	
		Gesunde (Bei allen Bacillenträgern Pirquet pos.)	54	28	51,85			
			571	499	87,3			
23	Liebermeister (I. Mitteilung)	Lungentbk. I. Grad	9	—	—	—		
		„ II. „	14	—	—	—		
		„ III. „	27	—	—	—		
			50	—	—			

Autoren	Untersuchte Fälle	Anzahl	Mikrosk. Präparat positiv	%	Art der Verarbeitung	Positive Tierversuche	%
(II. Mitteilung)	Tertiäre Tbk. III. Grad	50	—	—	—	24	48
	„ „ II. „	32	—	—	—	14	44
	„ „ I. „	18	—	—	—	2	11
		100	—	—			
	Klin. nicht nachweisbare aktive Tbk.	70	—	—	—	6	85,9
	Offene Lungentbk.	15	15	100	Stäubli-Schnitter	—	
	Geschloss. Lungentbk.	13	11	84,6	Ziel	—	
	Skrofulose		5	—	dgl.	—	
	Akute u. subakute Arthritis		10	—	„	1	
	Pleuritis		7	—	„	—	
	Peritonitis		3	—	„	—	
	Meningitis serosa		3	—	„	—	
	Endocarditis + vitium cordis		8	—	„	—	
	Hydrocephalus		1	—	„	—	
	Endo- und Pericarditis (Sammlungspräparat)		3	—	„	—	
	Chorea		3	—	„	—	
	Erythema nodosum		2	—	„	1	
	Angina		3	—	„	—	
	Hypertrophische Tonsillen (Präparat)	8	7	—	„	—	
	Ischias		5	—	„	—	
	Neuritis bei Phthisikern		—	—	Nervengewebe auf Meerschw. verimpft	3	
	Herzmuskel von Phthisikern	7	—	—	Histologisch	6	
	Anämien, blühende Bleichsucht, Pseudochlorose, Infantibulismus Unterernährung, Ulcus ventriculi	—	15	—	Stäubli-Schnitter Ziel	2	
	Nephritis		6	—	dgl.	—	
	Lebercirrhose		1	—	„	—	
	„		—	—	„	—	
4 Rumpf	I. Tuberkulöse	25	25	100	0,2 % Oxalat-Antiformin, Ziehl-Much	—	
	Gesunde	7	7	100		—	
	Frühere geheilte	6	6	100		—	
	II. Tuberkulöse, Gesunde, Schwer- und Leichtkranke, im Blut Stäbchen	35	—	—		3	8,5
5 Klara Kennerknecht		120 Kinder	109	91	Stäubli-Schnitter, Antiformin, Ziehl	—	
	Sichere Tbk.	68	68	100		—	
	Tbk.-Verdacht	20	18	90			
	Keine Tbk.	31	23	74			
	Verimpfte Blute	13	—	—		13	100
3 Fraenken	Tbk. III. Grades	32	5	9,8	Stäubli-Schnitter, Ziehl	5	13,7
	„ II. „	19				2	
		51				7	

	Autoren	Untersuchte Fälle	Anzahl	Mikrosk. Präparat positiv	%	Art der Verarbeitung	Positive Tierversuche	%
27	Klemperer, F.	Tuberkulöse	14	12	85,7	Stäubli-Schnitter, Anformin 33%, Ziehl	Keine Tierversuche	—
		Tbk.-Suspekte	7	4	57			
		Nicht Tuberkulöse	10	1[1])	10			
		Gesunde	8	0	0			
			39	17	43,5			
28	E. Rosenberg	Gesunde	8	0	0	Stäubli-Schnitter, Ziehl	dgl.	
		Lungentbk.	19	19	100			
		Verdächtige	3	2	66			
		Chirurg. op.	10	8	80			
			40	29	72,7			
29	Bacmeister u. Rueben (I. Mitteilung)	Initiale Kranke (Stäbchen im Blut)	15	15	100	Stäubli-Schnitter, Ziehl	0	0
		Gesunde	8	8				
		Kaninchen normal		+				
	(II. Mitteilung)	Vor Tuberkulininjektion, Tierversuche alle negativ, obwohl Stäbchen bei allen im Blut	15	15	—	Stäubli-Schnitter, Ziehl	0	0
		Nach der Tuberkulininjektion	15	—	—		4	
			30	—	—		4	13
30	Liebmann 1891	Nach Tuberkulininjektion bei Tuberkulösen jeden Grades, wo vorher keine Stäbchen nachweisbar waren	9	9	100	Blutstr. 1/2 Std. mit Karbolfuchsin erwärmt, Gabbetsche Lös. (kein Antiformin-Essigsäure)	Keine Tierversuche	
31	Rabinowitsch	Vor Tuberkulininjektion, tuberkulöse Meerschweinchen	2	—	—	Stäubli-Schnitter, Ziehl	0	
		Nach Tuberkulininjektion	2	2	—		2	
		Tbk. Kaninchen		vor der Tuberkulininjektion			0	
				nach der „			+	
32	Mammen	An Pferden, Kühen, Ochsen und Meerschweinchen	15	12	80	Antiformin 15% Ligroin, Ziehl	4	
33	Eigene Versuche	Tuberkulöse I. Stad.	15	0	0	Stäubli-Schnitter, Ziehl (Much)	0	0
		„ II. „	15	2	13,3		0	0
		„ III. „	11	6	54,5		0	0
		Tbk. Verdächtige	2	1	50		0	0
		Chirurg. Tbk.	2	2	100		0	0
			45	11	24,4		0	0
		Miliartuberkulose	1	1	(100)		1	(100
		Gesunde	4	1	—		0	0
		Kaninchen	2	0	0		—	—
		Pferd	1	0	0		—	—
		Rind	1	0	0		—	—
		Schwein	1	0	0		—	—
		Meerschweinchen	1	0	0		—	—
		Huhn	1	0	0		—	—

1) Lebercirrhose.

die Häufigkeit des Auffindens von säurefesten Stäbchen mit der Schwere der tuberkulösen Erkrankung zu.

4) Es ergibt sich aus unseren Untersuchungen, daß die Tuberkelbacillen nur bei Miliartuberkulose und wohl nur bei den schwereren Formen der Tuberkulose in größerer Zahl im Blute zirkulieren.

Zum Schluß bringen wir noch eine kurze Zusammenstellung der über diese Frage gemachten hauptsächlichsten Arbeiten und ihrer Ergebnisse (s. Tab. p. 491—494).

Literaturverzeichnis.

1) Acs-Nagy, Wien. klin. Wochenschr. 1910. No. 37.
2) Bacmeister, u. Rueben, Dtsche med. Wochenschr. 1912. No. 50.
3) Bacmeister, Münch. med. Wochenschr. 1913. No. 7.
4) Baumgarten, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1881.
5) Beitzke, Berlin. klin. Wochenschr. 1910. No. 31.
6) Bergeron, Thèse. Paris. 1904.
7) Besançon-Griffon et Philibert, Compt. rend. 1903. T. 55.
8) Bloch, Berlin. klin. Wochenschr. 1907. No. 17.
9) Bontemps, Dtsche med. Wochenschr. 1913. No. 39. p. 454/5.
10) Brem, Journ. of Amer. med. Assoc. Vol. 53. 1909. No. 12.
11) Broll, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1909. No. 49.
12) Cornet, Nothnagels Handbuch. 1900.
13) Dold, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 36. 1911. H. 4.
14) Duchinoff, Bruns Beitr. zur klin. Chirurg. Bd. 79. 1912. 1—5.
15) Forsyth, Brit. med. Journ. No. 2521.
16) Fränkel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 55. 1912. p. 100.
17) Fraenken, Congreß d. Royal Inst. of Public Health. Berlin 1912.
18) Gary, Thèse de Lyon. 1905.
19) Hildebrand, Münch. med. Wochenschr. 1906.
20) Hilgermann u. Lossen, Dtsche med. Wochenschr. 1912. No. 19.
21) Jansco u. Elfer, Beitr. z. Klin. d. Tuberk. Bd. 18. 1910. H. 2.
22) Jessen u. Rabinowitsch, Dtsche med. Wochenschr. 1910. No. 24. p. 1116.
23) Jousset, Bull. soc. méd. des hôpit de Paris. 1903 u. Sem. méd. 1904.
24) Kahn, Münch. med. Wochenschr. 1913. No. 7.
25) Kennerknecht, Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. Bd. 23. 1912.
26) Kessler, Münch. med. Wochenschr. 1913. No. 7.
27) Klemperer, F., Therapie d. Gegenw. 1912. Okt.
28) Körmoczi u. Jassniger, cit. nach Löwenstein.
29) Krause, Zeitschr. f. Tuberkul. Bd. 17. H. 5.
30) Kurashige, Zeitschr. f. Tuberkul. Bd. 17. H. 4.
31) —, ebenda Bd. 18. H. 8.
32) — u. Mayeyama, Yamada, Bd. 18. H. 5.
33) Lesieur, Journ. de Phys. et Pathol. gén. 1904. Sept.
34) Liebermeister, Virch. Arch. Bd. 197. 1909. H. 3.
35) —, Verhandl. d. Deutsch. Kongr. f. inn. Med. 1907. p. 180.
36) —, Dtsche med. Wochenschr. 1909. p. 1224.
37) —, Verhandl. d. 29. Deutsch. Kongr. f. inn. Med. Bd. 29. 1912.
38) —, Med. Klinik. 1912. No. 25.
39) Liebmann, Berlin. med. Wochenschr. 1891. No. 4.
40) Lippmann, Münch. med. Wochenschr. 1909. No. 43.
41) Löwe, S., Biochem. Zeitschr. Bd. 42. 1912.
42) Löwenstein, Zeitschr. f. Tuberkul. Bd. 7. 1905.
43) Lüdke, Wien. med. Wochenschr. 1906. p. 949.
44) Lustig, Wien. med. Wochenschr. 1884. p. 1429.
45) Mammen, Diss. Gießen 1911.
46) Marmorek, Berlin. med. Wochenschr. 1907. No. 1.
47) Meissel, Wien. med. Wochenschr. 1884. p. 1159.
48) Much, Beitr. z. Klin. d. Tuberk. Bd. 8. 1907. H. 1.
49) Neumann u. Wittgenstein, Beitr. z. Klin. d. Tuberk. Bd. 12. H. 2.
50) Oppenheimer, Münch. med. Wochenschr. 1911. No. 41.
51) —, ebenda 1911. p. 2104.
52) Rabinowitsch, Lydia, Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 3.

53) Rabinowitsch, Lydia, Dtsche med. Wochenschr. 1913. No. 3.
54) Rosenberg E., Münch. med. Wochenschr. 1913. No. 7.
55) Rosenberger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909.
56) Rumpf, Münch. med. Wochenschr. 1912. No. 36.
57) Rütimeyer u. Sticker, Centralbl. f. inn. Med. Bd. 6. 1885. 21.
58) Schern u. Dold, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt Bd. 38. 1912. H. 2.
59) Schmorl u. Geipel, Münch. med. Wochenschr. 1904.
60) Schnitter, Dtsche med. Wochenschr. 1909. No. 36.
61) Stäubli, Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 50.
62) Sturm, Beitr. z. Klin. d. Tuberk. Bd. 21. 1911. H. 2.
63) Suzuki u. Takaki, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1911. H. 1—2.
64) Vuillemin, cit. nach Liebermeister, Virch. Arch. Bd. 197. 1909. H. 3.
65) Weber, Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. 19. 1903.
66) Weichselbaum, Wien. med. Wochenschr. 1884. p. 334.
67) Wolff, Beitr. z. Klin. d. Tuberk. Bd. 25 1912. H. 1.
68) —, Münch. med. Wochenschr. 1909. No. 45. p. 2312.

Nachdruck verboten.

Notes de parasitologie et de technique parasitologique et observations sur quelques tumeurs des animaux.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **B. Galli-Valerio.**

Avec 8 figures.

I. Contribution à la distribution géographique de quelques parasites.

1) Lamblia intestinalis Lambl. Mus rattus jeune (intestin). (Lausanne 8 juin 1912; Galli-Valerio.) Avait determiné une entérite mortelle.

2) Echinococcus polymorphus Dies. Dromadaire (foie et poumons). (Ile de Djerba, Tunisie 1912; Mr. Weiss.) Kystes de la dimension d'un grain de chanvre à un petit pois, avec forte infiltration périphérique d'éosinophiles.

3) Oxyuris obvelata Brems. Mus rattus (intestin). (Lausanne févr. 1913; Galli-Valerio.)

4) O. longicollis Schmid. Tortue terrestre (sp.?) (intestin). (Sud Tunisien, 1912; Mr. Weiss.)

5) O. dentata Drasche. Idem. Idem.

6) Atractis dactylura Rud. Idem. Idem.

7) Laelaps agilis Koch. Mus decumanus et Rat blanc. (Lausanne, avril et nov. 1912; Galli-Valerio.)

8) Boophilus australis Fuller (class. Nuttall). Bovidés. (S. Paulo, Brésil; Dr. Carini.)

9) Simulium vittatum Zett. (class. Bezzi), Homme. (Port Quervain, Groenland, 31 juillet 1912; Prof. Mercanton.)

10) Culicada nigripes Zett. Idem. Idem. 24 juin 1912.

11) Chœtopsylla globiceps Tschb. Canis lagopus (entre les jambes postérieures). Idem. 9 août 1912.

12) Polyplax reclinata Burm. Leucodon araneus. (Plamont s/Orbe, Ct. de Vaud, 1. janv. 1913; Galli-Valerio.)

13) Lipeurus heterogrammicus N. Perdix cinerea. (Triasso, Valteline, 31 déc. 1912; Dr. Al. Polatti.)

II. Sur une coccidie de Leucodon araneus.

Dans l'intestin d'un L. araneus pris à Plamont s/Orbe (Ct. de Vaud) le 1. janv. 1912, j'ai trouvé un grand nombre de coccidies, de forme presque sphérique, à membrane d'enveloppe très nette, à double contour de la dimension de 15—18 μ. La plus grande partie de ces coccidies, présentait le protoplasma contracté en une masse globuleuse plus ou moins centrale de 9—10 μ. Dans quelques unes, on voyait se différencier dans le protoplasma, des sphères plus sombres, à contour très net.

III. Observations sur Sarcocystis muris Blanchard.

Le 18 et le 19 sept. 1912, chez deux souris blanches ayant succombé à l'Institut, dans un état de profond amaigrissement, j'ai trouvé les muscles envahis par S. muris. Les spores, examinées immédiatement dans la solution physiologique, étaient absolument immobiles. Placées dans de l'eau distillée, ces spores prenaient rapidement des formes involutives, courtes, en massue, au lieu des formes en virgule qu'elles présentaient auparavant. Dans les frottis séchés à l'air, fixés à l'alcool méthylique et colorés au Leishman, le protoplasma des spores se présentait coloré en azur, le noyau, situé vers l'extrémité plus épaisse, se présentait formé par un amas de granulations rouges. Les spores se coloraient aussi par la fuchsine de Ziehl, et par l'hématoxyline de Böhmer, mais non par le carmin aluné.

J'ai placé une certaine quantité de ces spores, sur du papier filtre humecté avec de la solution physiologique stérile et contenu dans une plaque de Petri stérilisée, laissée à la température de 20°. Ce matériel, examiné 8 jours après, présentait:

1° Des formes en massue. 2° Des formes presque sphérulaires. 3° Beaucoup de formes à mouvements amiboïdes lents, soit à 20° soit à 37° (fig. 1 a, b, c, d, e), à protoplasma finement granuleux, à noyau central plus sombre.

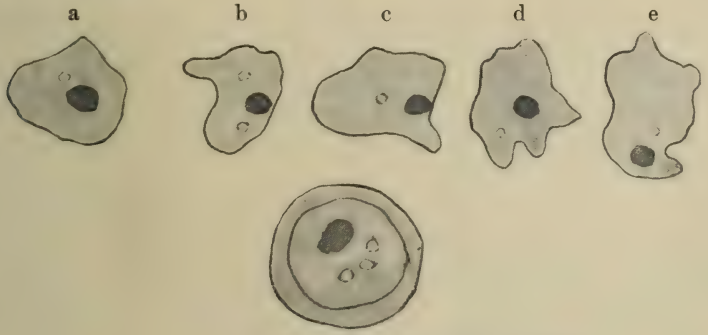


Fig. 1. 1:1000 (à frais).

Des frottis de ce matériel, séchés à l'air, fixés à l'alcool méthylique et colorés au Leishman, ou 24 h. dans le Giemsa 1:20, montraient toutes ces formes colorées en azur, avec un noyau rond ou légèrement ovoïde colorée en rouge et des vacuoles claires.

Un examen pratiqué après 32 jours, ne montre plus que des formes rondes, à double contour (fig. 1 f), à protoplasma granuleux, vacuolisé et à noyau plus sombre. Les formes amiboïdes sont très rares.

Déjà en 1896 G. P. Piana[1]) ayant ensemencé de la même façon des spores de Sarcocystis tenella, avait constaté l'apparition de formes amiboïdes, suivies d'encapsulement, et il s'était demandé si ces formes ne représentaient peut être pas une phase évolutive des spores de cette espèce. Il est intéressant de noter, que j'ai constaté un fait analogue, ensemençant S. muris. S'agit-il réellement d'une transformation des spores ou bien d'une infection accidentelle à amibes? Si on compare au début quelques formes modifiées des spores sur papier filtre, avec quelques formes amibiennes, on a presque l'impression qu'il y a des formes de passage des unes aux autres (fig. 2). Mais je me garderai bien de me prononcer dans le sens d'un passage des spores aux amibes, car la petitesse de S. muris ne permet pas d'ensemencer du matériel pur, et il faudrait répéter ces recherches avec S. tenella dont les gros kystes permettent d'ensemencer un matériel très pur.

Fig. 2. 1:2250 (après fixation).

J'ai fait quelques expériences d'infection sur les animaux, soit avec les spores fraîches soit avec les formes amibiennes développées sur papier filtre.

Un cobaye ayant mangé des fragments de muscles infectés le 18 sept. 1912, est mort le 5 févr. 1913, mais sans présenter de sarcosporidies.

Un rat blanc reçoit dans les muscles de la face externe de la cuisse gauche, une injection de spores fraîches dans la solution physiologique, le 18 sept. 1912. Il meurt le 25 mars 1913, sans présenter de sarcosporidies.

Un rat blanc et une souris noire sont inoculés d'une façon identique le 20 déc. 1912, avec une culture ne contenant que des amibes. Le rat meurt en 31 mars 1913, la souris est tuée le 7 avril 1913.

Les deux présentent au point inoculé un petit nodule blanchâtre, comme une tête d'épingle, formé par du matériel puriforme, mais sans sarcosporidies et sans amibes.

IV. Herpetomonas scatophagae n. sp. chez Scatophaga stercoraria.

Le 23 juin 1912 sur le pâturage des Vélards à 1365 m dans le Jura, j'ai capturé sur des matières fécales de vaches, quelques exemplaires de Sc. stercoraria. L'intestin de ces diptères, contenait une quantité énorme d'Herpetomonas, doués de mouvements très rapides. Fixés et colorés au Leishman, ils présentaient un corps allongé de 36 μ qu'avec une des extrémités en pointe un peu émoussée et l'autre continuée par un flagelle plutôt épais, à peu près de la même longueur que le corps. Dans le protoplasma coloré en azur, on remarquait un noyau ovoïde, placé à peu près au centre du corps du parasite et coloré en rouge, et un blepharoplaste rond, coloré aussi en rouge, placé à la base

1) Moderno Zooiatro. 1896. No. 6.

du flagelle. Plusieurs formes, se présentaient comme accollées les unes aux autres, faisant penser à des formes de multiplication ou en voie d'agglomération (fig. 3).

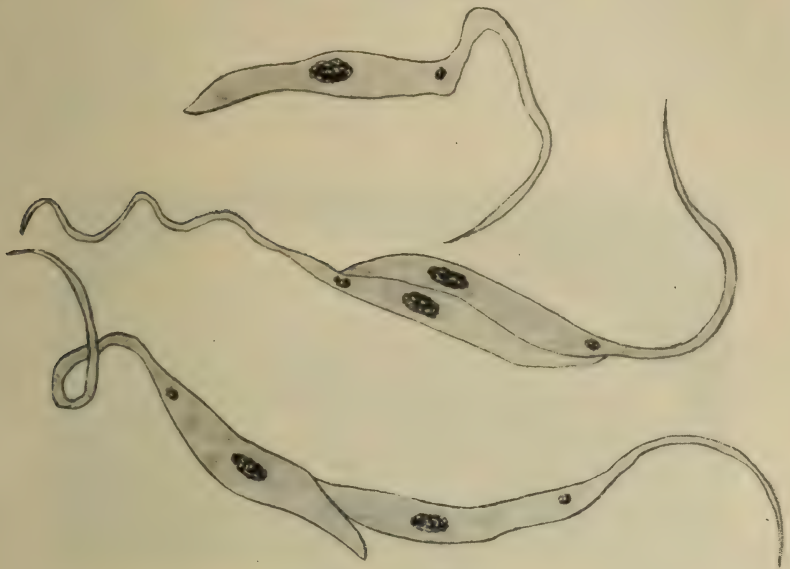


Fig. 3. 1:2250.

V. Observations sur la gale du rat à Sarcoptes alepis Raill. et Lucet.

S. alepis, découvert par Legros en 1865 sur des rats du Jardin des Plantes de Paris, a été retrouvé après par Railliet et Lucet sur le surmulot albinos, sur le rat noir et sur le campagnol amphibie. Suivant ces auteurs, la gale qu'il détermine, se localise aux oreilles et aux organes génitaux et parait être constamment bénigne[1]). Tiraboschi[2]), dans son travail d'ensemble sur les parasites cutanés des rats et des souris, dit que S. alepis n'a jamais été vu qu'en France et qu'il ne la jamais trouvé sur les rats en Italie. En 1909 Schürmann[3]) décrit chez les rats de l'Institut de thérapie expérimentale de Düsseldorf, une gale se localisant surtout aux pattes, au nez, aux oreilles et à la queue, gale transmissible par contact, au rat, à la souris et à l'homme, mais non au cobaye, lapin et chien. D'après les descriptions et les dessins de l'auteur, je suis convaincu qu'il s'agit de la gale déterminée par S. alepis. L'année suivante Ascher[4]) décrit chez les rats de l'Institut pour les recherches sur le cancer d'Heidelberg, une gale mortelle, se localisant surtout au nez et aux oreilles, transmissible à l'homme, mais non à la souris, due à un Sarcoptes, que je rapporte aussi avec grande probabilité à S. alepis.

Nonobstant les rats très nombreux que j'ai examiné jusqu'à maintenant en Italie et dans le Canton de Vaud, je n'ai jamais rencontré des cas de gale chez ces animaux. Ce n'est qu'en janvier 1913 que sur de jeunes rats blancs provenants de Berlin, j'ai trouvé cette affection.

1) A. Railliet, Traité de zoologie médicale et agricole. 2. éd. Paris 1895. p. 662.
2) Archives de Parasitologie, T. 8. 1903—1904. p. 326.
3) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909. p. 167.
4) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. 47. 1910. p. 792.

Les lésions étaient localisées aux oreilles, à la queue, aux pattes, au nez, aux organes génitaux et à l'anus. Au début ces lésions étaient caractérisées par de petits boutons brun rougeâtres, de la dimension d'une petite tête d'épingle. Mais sous l'influence du grattage, surtout au niveau du nez, des organes génitaux, de l'anus et des oreilles, se formaient des croûtes noirâtres, faisant saillie sur la peau, et qui au niveau du nez, donnaient de véritables cornes de 6—7—8 mm de long, imprimant à la tête des rats un aspect fort curieux, qui rappellait celui que j'ai décrit chez les lapins atteints de gale à S. scabiei var. praecox[1]) (fig. 4).

Fig. 4.

Pustules et croûtes, traitées par la potasse caustique, mettaient tout de suite en évidence un Sarcoptes, présentant tous les caractères de S. alepis. Il y avait des femelles ovigères de 390—400×300 μ contenant un œuf non embryonné, des femelles jeunes de 180×150 μ, des nymphes et des larves de 135×90 μ. Les mâles étaient rares, de 160×135 μ. Les œufs étaient ovoïdes, de 100×75 μ, mélangés à de grandes quantités de matières excrémentitielles des acariens.

Sur les coupes colorées au carmin aluné on constatait:

1° Les cornes nasales étaient formées par un amas formidable de croûtes, réunies ensemble par du sang, et contenant une grande quantité d'acariens, d'œufs et de matières excrémentitielles des acariens.

2° Les pustules cutanées, formaient comme de petits sacs enfoncés dans la couche cornée de l'épiderme, et contenant des femelles avec leur œufs et leur excréments. Tout autour de ces excavations, on remarquait une forte infiltration inflammatoire.

Les rats atteints ne semblaient pas souffrir beaucoup. Avec des croûtes prises sur ces rats, j'ai essayé d'infecter différents animaux et l'homme, en les portant sur la peau préalablement raclée avec un bistouri. Les animaux ont été infectés au niveau du nez; sur moi-même j'ai fixée les croûtes avec une bande de gaze, au niveau du poignet. Le résultat a été complètement négatif sur Mus rattus, Mus musculus, lapin, cobaye et sur moi. Sur un rat blanc, je n'ai eu que la formation d'une petite croûte au niveau du nez, après 2 mois.

J'ai trouvé S. alepis aussi dans des lésions de l'oreille d'un M. decumanus qui m'a été envoyé de S. Paulo (Brésil) par le Dr. Carini.

1) Moderno Zooiatro. 1892. no. 22. The Veterinary Journal. 1895. p. 16.

VII. Résistance de quelques Pediculidés au jeûne.

Plusieurs exemplaires de Phthirius pubis gardés, avec des poils, dans une boite vitrée à 20° C, sont morts après 2 jours.

Sur une série de 25 Pedicules cervicalis, gardés dans les mêmes conditions, 24 sont morts après 24 h. et un jeune après 48 h.; et sur une série de 12, 6 sont morts après 24 h. et 6 après 48 h.

Plusieurs exemplaires de P. vestimenti placés dans une éprouvette à 20° C, ont vécu 5 jours.

VIII. Observations sur quelques tumeurs des animaux.

Le problème de l'étiologie et de la pathogénèse des tumeurs de l'homme, s'éclaircira de plus en plus par l'étude des tumeurs chez les animaux. C'est dans le but de porter une petite contribution à l'étude de la question, que je publie ces quelques observations.

1° Tumeurs spontanées chez les souris et les rats à Lausanne. Sur plusieurs centaines de souris et de rats que j'ai eu l'occasion d'examiner à Lausanne, je n'ai trouvé que deux fois des tumeurs spontanées: une fois chez une souris blanche et une autre chez un Mus rattus.

La souris blanche (mars 1910) présentait sur le côté droit du cou, une tuméfaction non fluctuante, de la dimension d'une petite noisette, couverte par la peau normale. Il s'agissait d'une carcinome ayant son point de départ dans le lobe droit de la thyroïde. Des frottis, colorées au Leishman, n'ont pasp ermis de constater la présence de formes pouvant faire penser à des parasites.

Le Mus rattus (3 nov. 1911) présentait à l'autopsie les deux poumons comme fusionnés ensemble en une masse blanchâtre, lardacée, bosselée, de forme conique à base postérieure (fig. 5). Cette masse avait une longueur de 5 cm et $^1/_2$, une largeur à la base de 4 cm et $^1/_2$ et de 3 cm et $^1/_2$ au sommet. Le cœur était englobé dans cette néoformation. Du tissu pulmonaire normal, il n'en restait

Fig. 5.

plus qu'à la base des deux poumons. Il n'y avait point d'adhérences avec la plèvre costale, mais avec la diaphragmatique. Sur la plèvre costale droite, il y avait un nodule lardacé de la dimension d'un petit pois. Point de lésions dans les autres organes.

L'examen microscopique, démontre qu'il s'agite d'un sarcome. Des frottis, colorés au Leishman et au Giemsa, montrent par ci par là dans les cellules, des corpuscules violacés ronds ou piriformes, entourés d'une auréole claire.

Un Mus rattus inoculé dans la plèvre avec une émulsion de cette tumeur, est mort 1 mois et $^1/_2$ après à la suite d'une entérite à blastomycètes, mais sans présenter de lésions sarcomateuses.

2° Verrues de la génisse: En mai 1911 j'ai trouvé à Boven (Orbe Ct. de Vaud) une génisse présentant de nombreuses verrues en chou fleur, aux joues, au cou, au garrot et à la croupe (fig. 6a). Plusieurs étaient groupées ensemble, surtout au niveau de la croupe et du garrot, où elles arrivaient à la dimension d'une noix. Arrachées par l'animal qui se grattait contre les arbres ou avec une forte pince, elles laissaient une surface saignante sur laquelle se posaient immédiatement des mouches, qui jouent peut être un rôle dans la dissémination de la maladie. Suivant le propriétaire, cette génisse s'était infectée en 1910 sur un pâturage du Jura, où il y avait une autre génisse atteinte de verrues.

Fig. 6.

L'examen microscopique des frottis de ces verrues, ne m'a montrée que quelques microcoques isolés un par deux, se colorant par le Gram. Dans le liquide de filtration sur bougie Silberschmidt, le Giemsa ne colorait que de très fines granulations.

Sur les coupes, les néoformations présentaient la structure ordinaire des verrues.

Le 22 mai 1911, j'ai inoculé 2 Mus rattus par scarification à la nuque et aux oreilles, l'un avec le raclage de ces verrues, l'autre avec ce même raclage écrasé dans de la solution physiologique et filtré sur bougie Silberschmidt. J'ai en outre inoculé de la même façon 2 poules à la crête et au joues.

Fig. 7.

Tandis que le rat inoculé avec le filtré et les deux poules, n'ont rien présenté, le rat inoculé avec le raclage a présenté, après 4 mois, de tout petits nodules au niveau de la nuque et des oreilles. Mais tandis que les nodules à la nuque ont régressé, ceux à l'oreille se sont de plus en plus développés et en août 1912 où l'animal a succombé, on remarquait aux oreilles une néoformation papillomateuse déchiquetée (fig. 7).

Sur les coupes, cette néoformation présentait la structure de verrues fortement vascularisées.

Cette expérience démontre donc la possibilité d'inoculer les verrues des bovidés à Mus rattus en utilisant le raclage des verrues.

Au contraire, le produit de filtration de ces mêmes verrues ne m'a pas donné de résultat. Suivant Ciuffo et Serra[1]) au contraire, on pourrait transmettre les verrues de l'homme avec le produit de filtration sur Berkefeld N et W.

3° Papillomes aux pattes des oiseaux. Rivolta et Delprato[2]), ont décrit chez les canaris et d'autres petits oiseaux gardés en volière, de petits nodules localisés aux doigts et formés par l'hyperplasie du derme et des papilles. Ils ont attribué ces néoformations à

Fig. 8.

l'irritation provoquée par la saleté des cages et par les coups de bec. Grâce à l'obligeance de Mr. Ghidini, préparateur au Musée d'Histoire naturelle de Genève, j'ai eu l'occasion d'examiner deux cas intéressants de ces néoformations chez les oiseaux.

Dans un premier cas, il s'agissait d'une Fringilla coelebs ♂, pris dans les environs de Locarno (Ct. Tessin). Aux 2 pattes tous les doigts étaient entourés comme par un manchon de papillomes, manchon qui arrivait, sauf au doigt du milieu, jusqu'à l'insertion des ongles (fig. 8, Phot. Ghidini). Les espaces entre les doigts avaient disparu et la masse papillomateuse, d'une coloration jaunâtre et d'une épaisseur de 4 mill. avait la forme d'un triangle, à base de cent. 1,50 et haute cent. 1,60.

1) Cité par Vallillo, Zeitschr. f. Infekt. parasit. Krankh. u. Hyg. d. Haustiere. Bd. IX, 1911, p. 433.

2) L'Ornitojatria. Pisa 1880. p. 285.

Le traitement par la potasse caustique de quelques fragments de la néoformation, démontrait l'absence d'acariens. On trouvait par ci par là des spores d'un champignon du type Cercosphaera. L'examen des coupes démontrait qu'il s'agissait d'un papillome très vascularisé.

Dans un second cas, il s'agissait d'un Vanellus capella pris dans les environs de Genève. Aux deux pattes, vers l'insertion des doigts, il y avait une néoformation de la dimension d'un petit pois, bosselée, dure. Le traitement par la potasse caustique démontrait l'absence d'acariens, les coupes montraient la structures d'un papillome.

IX. Note de technique parasitologique.

Le procédé de coloration négative, c. a. d. le procédé qui colore le fond des frottis, fond coloré sur lequel se détachent nettement en blanc bactéries, protozoaires et larves d'helminthes, introduit dans la pratique par Rivolta, très employé par Piana, qui avait pu mettre en évidence Sp. denticola[1]), a été surtout rendu pratique par Burri en 1909, utilisant l'encre de chine au lieu du carmin ammoniacal employé par les deux précédents observateurs. Dernièrement Harrison[2]), pour éliminer les inconvénients des granulations qu'on observe souvent dans les préparations à l'encre de chine, a proposé de remplacer cette substance par une solution d'un partie de collargol dans 19 d'eau distillée. On l'emploie avec la même technique que l'encre de chine.

J'ai appliqué ce procédé aux spirochètes de la bouche et de la syphilis et aux bactéries. Tous ces germes se détachent nettement en blanc sur un fond uniforme, jaune brun. Le procédé de Harrison me semble donc vivement à recommander.

14 avril 1913.

Nachdruck verboten.

Ueber den Ursprung der Leishmaniosis interna (Kala-azar) vom Hunde.

Von Prof. **U. Gabbi**, Rom.

Es ist das Verdienst C. Nicolles (1), die Leishmaniosis spontanea des Hundes entdeckt zu haben, nachdem er auf experimentellem Wege die Infektionsfähigkeit des Hundes durch im Milzsafte enthaltene Leishmania humana nachgewiesen hatte. Diese Versuche wurden in Italien durch Jemmas (2) und durch meine (3) Forschungen bestätigt. Er sprach sich als erster für den Ausgang des Kala-azar vom Hunde aus, stellte aber nicht gleich die morphologische, kulturelle und pathologische Identität der seiner Annahme nach vom Hunde oder vom Menschen stammenden Leishmania fest, ebensowenig bewies er in sicherer Weise, wie sich die Uebertragung des Keimes vom Hunde auf den Menschen vollzieht. Hinsichtlich dieses Punktes betrachtete er als mögliche Träger des Virus die Flöhe, Moskitos und Zecken; doch ergibt sich nicht aus den angestellten Forschungen, daß beweisende Resultate erzielt worden sind. Um nun seinen Annahmen eine sichere Grundlage zu verleihen, war es notwendig, mit Genauigkeit die Verbindung

1) Moderno Zooiatro. 1893 et 1896.
2) Journ. of trop. med., 13. p. 40.

zwischen dem befallenen Kinde und dem Hunde, dem Träger des Virus, festzustellen und zu beweisen, daß, so oft ein Kind von der Leishmania befallen war, Hunde vorhanden waren, die an derselben Krankheit litten, und zwar, wenn nicht in demselben Hause, so doch in unmittelbarer Nähe desselben, wenn zwischen Hund und Kind ein Kontakt stattgefunden hatte. Doch ist beim Lesen der 30 Beobachtungen, die Nicolle oder seine Schüler veröffentlicht haben, leicht festzustellen, daß in keiner einzigen derselben eine Gleichzeitigkeit der Infektion des Hundes und des Kindes bestand. Aus den in Rede stehenden Beobachtungen ergibt sich: 1) daß in 13 absolut keine Rede ist von der Anwesenheit von Hunden in den Wohnungen der befallenen Kinder; 2) daß in 17 die Anwesenheit oder der Kontakt mit gesunden oder kranken Hunden erwähnt wird; 3) daß sich unter diesen das Vorhandensein von 7 kranken oder toten Hunden ergibt; 4 von den ersteren wurden getötet, ohne von der Leishmania befallen zu sein; die 3 toten sind nicht untersucht worden. Im großen und ganzen kann man sagen, daß nie eine Gleichzeitigkeit der Krankheit beim Hunde und beim Kinde bestand, und in mehr als einem Falle gehörten die Hunde nicht den betreffenden Familien (3). Ferner ist zu bedenken, daß Nicolle unter 232 tunesischen Hunden (222 aus Tunis, 5 aus den Vorstädten und 5 aus dem öffentlichen Hundestalle) nur 4 von der Leishmaniosis befallen fand, und daß die beiden Yakimoff (4) bei ihren neuerdings in Tunis wiederholten Forschungen unter 292 in den Monaten Januar, Februar, März, April, Mai 1911 untersuchten Hunden nur 5 infiziert fanden. Der Prozentsatz von 1,8 Nicolles fällt auf 1,07 und dies um so mehr, als die Zahl der klinischen Beobachtungen der Kala-azar bei Kindern schon auf 24 gestiegen war. In Algier beobachteten Ed. und Et. Sergent und Quilichini (5) in einem Falle einen Hund und ein Kind (sowie eine Katze), welche gleichzeitig befallen waren, und fanden vom 15. Juli bis 1. Oktober 1910 unter 125 Hunden 9 infizierte (= 7,2 Proz.). Dies brachte Nicolle sofort auf den Gedanken, „qu'il est fast possible que durant les mois chauds la maladie soit plus répandue que pendant l'hiver“ (1). Ich bitte den Leser, seine Aufmerksamkeit auf diesen Punkt zu lenken, da ich auf denselben bald zurückkommen muß.

Basile (6) fand in Italien in zwei von mir ermittelten endemischen Leishmanioseherden, in Bordonaro und Siderno Marina (7), zuerst mit Leishmaniose infizierte Hunde: „ce, schrieb Nicolle, „qui confirme ma conception de l'origine canine de la maladie“. Nach dieser Feststellung untersuchte er als erster unter uns die Uebertragung des Virus vom Hunde auf den Menschen. Nicht die Zecken, sondern die Flöhe hält er dieser Uebertragung fähig, und er bewies in einer Reihe gut geordneter Versuche:

1) Daß in Bordonaro sich unter 33 untersuchten Hunden 27 von der Leishmaniose befallen befanden, d. h. 71 Proz. (In den Häusern, in denen sich Kala-azar vorfand, befanden sich auch infizierte Hunde, so in Bordonaro, Bovalino, San Filippo del Mela usw.);

2) daß in Rom unter 60 untersuchten Hunden sich 16 infizierte, = 26 Proz., befanden;

3) daß bei Flöhen von infizierten Hunden Parasitenformen gefunden wurden, die mit der „Leishmania morphologisch identisch“ waren;

4) daß die Injektion auf subkutanem Wege bei gegen Leishmaniose immunen Hunden mit dem Darminhalt von auf dem infizierten Hunde genährten Flöhen die Infektion hervorrief;

5) daß die Pulex serraticeps der gegen Leishmaniose immunen Hunde durch Aufsaugen der Milz infizierter Hunde infiziert und infizierend wurden;

6) daß die gegen Leishmaniose immunen Hunde sich infizieren, wenn sie mit infizierten Hunden zusammen leben;

7) daß 4 immune, römische Hunde durch von Bordonaro gebrachte Flöhe infiziert wurden; und zwar im Verhältnis von 4 Prom.;

8) daß in den Betten der Landarbeiter usw. P. serraticeps gefunden wurden; bei Hunden fand man häufig als Ektoparasiten P. irritans;

9) daß die Pulex irritans, die im Bette eines von Kala-azar befallenen Kindes gefunden wurden, identische Formen mit den in P. serraticeps gefundenen aufwiesen;

10) daß in dem auf einem Hunde, der einer Familie mit einem Falle von Kala-azar gehörte, gefundenen P. irritans zahlreiche Leishmaniae gefunden wurden;

11) daß von Bordonaro stammende und jungen, immunen Hunden aufgesetzte Hunde- und Menschenflöhe die Infektion hervorriefen;

12) daß die Versuche, die Flöhe mittels Leishmania-Kulturen zu infizieren, vollständig mißlangen.

Basile hat in seinen früheren Arbeiten niemals Zweifel ausgedrückt, daß die „morphologisch mit der Leishmania identischen Formen" Uebergangsstadien der Critidien und der Herpetomonaden, welche Parasiten der Flöhe sind, sein könnten. Dies ist ein Grund, warum Wenyon (8) in einem zusammenfassenden Artikel erwähnt, daß man sowohl in P. serraticeps als auch in Pulex irritans diese Formen antrifft und daß es angebracht gewesen wäre, den Beweis zu erbringen, daß es sich bei seinen Flöhen um Leishmania und nicht um Herpetomonaden handelte [Porter (9), Fantham (10)[1]), Nöller (11)]. Auch Fantham hat neuerdings behauptet, daß Basile nicht hinreichend die Möglichkeit ausgeschlossen habe, daß Formen von Herpetomonas ctenocephali für Leishmania gehalten wurden. Ebenso behauptet Patton in einer kürzlich erschienenen Arbeit, daß Basile vergessen habe, „die mögliche Anwesenheit von Piroplasma bei Hunden zu erwähnen", obwohl gewisse Stadien des Parasiten in der Milz derselben in der Tat mit Leishmania verwechselt werden können. Er kann erwidern, daß es ihm gelungen ist, immune Hunde mit Flöhen infiziert zu haben, die mit der Leishmania morphologisch identischen Formen infiziert waren; doch werden wir weiter unten sehen, daß die Versuche Massaglias, Marshalls und der beiden Brüder Sergent, Lhéritier und Lemaires nicht zu gleichen Resultaten führten.

Fast gleichzeitig mit Basile entdeckte Sangiorgi (12) Geißelformen bei den in Catania herrenlos herumlaufenden Hunden, Formen, die er für Leishmania hält; eine Behauptung, die zuerst von Basile und dann von Mazzocchi (13) widerlegt wurde. Letzterer fand Geißelformen bei Hundeflöhen in Piemont, wo bisher noch kein Fall von innerer Leishmaniose festgestellt worden war. Auch Fantham (l. c.) erhebt diesen Einwurf, dem auch der von Wenyon (14) hinzuzufügen ist, nämlich, daß Sangiorgi nicht angegeben hat, ob die Hunde, von denen

1) Es muß den Leser verwundern, daß, während Basile behauptet, es seien im Durchschnitt 4 Prom. der Hunde, die mit Leishmaniose infiziert sind, Alvares und Da Silva einen bedeutend höheren Prozentsatz angeben, besonders wenn man bedenkt, daß die Leishmaniae sich nie oder fast nie im peripheren Blute der Hunde vorfinden.

er die Flöhe genommen hatte, von Leishmaniose infiziert waren oder nicht. Nach Sangiorgi hat Pulvirenti (15) in Catania nach der spontanen Leishmaniose beim Hunde geforscht. Er untersuchte in den Monaten Februar, März und April 80 Hunde, ohne nur 1 infizierten zu finden; während der Monate Oktober, November, Dezember (1910) und Januar (1911) untersuchte er 185 in Catania und fand 3 infizierte; unter 20 aus dem Stadtviertel del Rotolo, wo sich zahlreiche Fälle von Leishmaniosis humana finden, ist kein einziger infiziert. Noch mehr! unter 5 Hunden, von denen 2 sehr jung und lange Zeit mit an Kala-azar leidenden Kindern in Berührung waren, fand er keinen einzigen infiziert. Pantò (16) wiederholte diese Untersuchungen und fand einen 2mal so hohen Prozentsatz infizierter Hunde, als ihn Pulvirenti angegeben (1,9 Proz.).

Alvarez und Da Silva (17) haben gefunden, daß die auf einem von Leishmaniose infizierten Hunde gesammelten (20) Flöhe Leishmania-Formen aufwiesen, während die auf einem immunen Hunde gesammelten sie nicht aufwiesen. Sie nehmen an, daß die Infektion des Menschen nicht durch die Punktur, sondern durch die Leishmaniae enthaltenden, und auf Hautstellen, die des Epithels beraubt sind, niedergelegten Exkremente verursacht wird. Auch diese beiden Forscher erwähnen ganz und gar nicht die Möglichkeit von Geißelformen, die nicht von den Leishmaniae stammen, und bedenken nicht, daß die Leishmania nicht mit den Bakterien in Symbiose leben kann (die L. tropica lebt schlecht darin).

Critien (18) und Babington (19) fanden auf Malta die spontane Leishmaniose des Hundes, und obgleich ersterer auf den Ursprung des Kala-azar vom Hunde hinweist, hat er doch keine Untersuchungen auf und mit Flöhen angestellt. Cardamatis (20) untersuchte in Griechenland 254 Hunde und fand sie im Verhältnis von 6,69 Proz. infiziert. Auch er glaubt an den Ursprung des Kala-azar vom Hunde, doch hat er diesbezüglich keine Forschungen angestellt. Jemma (21) fand in Palermo unter 300 Hunden keinen einzigen infiziert. Beim Wiederholen der Forschungen konnte er feststellen, daß in Carini ein Hund in einem Hause in der Nähe eines anderen, in dem er ein an Kala-azar leidendes Kind fand, von der Leishmaniose befallen war, und daß im Hause des kranken Kindes ein kranker Hund getötet worden war. Im Hause eines anderen, ebenfalls an Kala-azar leidenden Kindes war kein Kontakt mit einem Hunde festzustellen, aber bei einem herrenlos umherlaufenden Hunde fand man Leishmaniose.

Franchini (22) führte den Nachweis, daß die Flöhe durch Kulturen nicht infiziert werden. Hierauf habe ich Versuche angestellt, die darauf gerichtet waren, Flöhe zu infizieren, indem ich sie im hungernden Zustande in Berührung brachte mit Milzsaft, der an Leishmaniose leidenden Kindern entnommen war und Leishmania enthielt[1]). Der Versuch fiel sowohl mit dem Hundefloh als auch mit dem vom Menschen negativ aus, obwohl sich deutlich aus den Aufstrichen ergab, daß sie im Verdauungstrakt Blut hatten. In der letzten Zeit hat Basile immune Hunde mit infizierten zusammengebracht, sowie Flöhe von infizierten Hunden mit solchen von immunen Hunden. Massaglia (24) ließ im Sommer, wo die Flöhe am meisten stechen, eine mit Leishmaniose in-

1) Ich habe im Laufe dieses Sommers die Versuche wiederholt, indem ich den Milzsaft auf Stücke von Hühnermilz legte, und gegenwärtig machen wir unter der Hand Versuche mit Hundemilz.

fizierte Hündin mit 2 ganz jungen Hunden zusammen leben. Das Resultat war negativ. Nachdem es Marshall (25) gelungen war, auf experimentellem Wege die endemischen Hunde mit der Leishmania humana zu infizieren, brachte er infizierte und gesunde Hunde (auch einen ganz jungen) zusammen, auch brachte er in den Käfig derselben Flöhe und vermehrte noch die der Hunde. Auch hier war das Resultat negativ.

Ed. Sergent, Lhéritier und Lemaire haben Hundeflöhe, die sie 1—8 Tage lang auf einem mit Leishmaniose infizierten Hunde sich hatten nähren lassen, mit 3 immunen Hunden in Berührung gebracht: bei 1 war das Resultat positiv. Diese Versuche haben wohl kaum einen beweisenden Wert. Die Forscher haben nämlich eine seit 2 Monaten im Pasteurschen Institut zu Algier lebende Hündin genommen, die Leberpunktur ausgeführt, und da sie keine Formen von Leishmaniae vorfanden, haben sie dieselbe für immun erklärt. Sodann setzten sie auf dieselbe Flöhe (P. serraticeps), die sie einem infizierten Hunde entnommen hatten und welche die Hündin 82mal bissen. Die von all diesen Ektoparasiten befreite Hündin wurde während der ganzen Dauer des Versuches von denselben frei gehalten. Im März und im April magerte die Hündin ab und wies die klinischen Zeichen des bereits infizierten Hundes auf; der Verlust an Körpergewicht betrug 2 kg. Die Untersuchung des Femurmarkes „reste toujours(?) négatif“[1]). Das Gewicht nahm im Juni wieder zu; am 12. Juni wurde das Tier getötet. Die Untersuchung der Leber ergab ein negatives Resultat; in den Ausstrichen der Milz und des Knochenmarkes beobachtet man „de très rares Leishmania paraissant dégénérées“. Die Kulturen des Milzsaftes lassen auch Leptomonas ..... entwickeln, die des Knochenmarkes bleiben steril. Dazu ist zu bemerken:

1) Daß nach Feststellung der Immunität des Hundes mittels der bloßen Leberpunktur (und nun werden wir die Beweiskraft sehen) man wenigstens 80 Tage hätte vergehen lassen müssen, um jeden Zweifel zu heben, daß die Hündin zur Zeit der Punktur die Infektion in der Inkubationsperiode besaß; man hätte die Punktur von neuem vornehmen und der größeren Sicherheit halber Kulturversuche machen müssen, wie es Laveran und Petit anraten, mittels deren Infektionen aufgedeckt werden, die bei den Ausstrichen verborgen bleiben.

2) Daß die bloße Leberpunktur nicht hinreichend ist, um den Hund als gegen die Leishmaniose immun zu erklären, denn bei der Leishmaniosa spontanea ist die Leber das am wenigsten befallene Organ. Nicolle und Yakimoff liefern uns dafür den Beweis. In keinem der 4 Hunde Nicolles, die eine spontane Infektion aufwiesen, fanden sich in der Tat Parasiten in der Leber (in einem, No. 1, ist dies ausdrücklich angegeben; in den 3 anderen wird von positiven Befunden gesprochen, doch wird nur die Milz und das Knochenmark erwähnt). Von den 4 ebenfalls spontan infizierten Hunden der Brüder Yakimoff wird bei zweien (2. und 4.) ausdrücklich erklärt, daß sich in der Leber keine Parasiten vorfanden; in einem anderen (3.) konnte man darüber nichts sagen wegen einer großen Bakterienaufschwemmung in dem Organe; und von dem anderen (4.) gibt man an, die Parasiten nur in der Milz und im Knochenmarke angetroffen zu haben. Mir scheint daher, daß die bloße Punktur der Leber nicht hinreichend ist, um die

1) Warum schreiben sie toujours, wenn sie nur eine Punktur vorgenommen haben?

Hündin für immun zu erklären, da bei der Leishmaniosis spontanea dieses Organ in Afrika fast nie infiziert ist. Und dies um so mehr, wenn ich erwäge, daß die am 12. Juni getötete Hündin vor dem Versuche keine Parasiten in der Leber aufwies, während man **in der Milz und im Knochenmark** ausschließlich degenerierte Leishmania antraf. Wenn es der Fall sein kann, daß der Hund infiziert ist, wenn die Leber frei von Parasiten ist, so genügt die bloße Punktur derselben nicht, um das Tier als gegen die Infektion immun zu erklären.

3) Die Tatsache muß überraschen, daß, während die Infektion klinisch in actu ist (April), die Markpunktur negativ war, daß sie aber am 12. Juni positiv ausfiel, als die Hündin „remonte en poids", nämlich wo die Infektion sich auf dem Wege der Heilung befand („de très rares Leishmania paraissant dégénérées").

4) Die Kulturen des Marksaftes fielen in N N N negativ aus; ein Beweis, daß sie tatsächlich wenig lebensfähig waren. Vielleicht irren wir uns, doch scheint uns der Versuch ohne beweisenden Wert zu sein. Die Forscher haben nämlich nur einen einzigen Floh benutzt, während man aus den Beobachtungen Basiles weiß, daß die untersuchten Hunde und in den Familien zu Bordonaro gesammelte Flöhe in einem Verhältnis von 4‰ infiziert waren, und daß sich die Leishmania nur selten im peripheren Blute der infizierten Hunde befindet. Ferner ist noch zu bemerken, daß sie einige von den Flöhen untersucht haben, die zu Versuchen gedient hatten, und andere „capturées sur un chien supposé sain" und daß sie bei 2 der ersteren und 2 der letzteren „de nombreuses formes de repos binuclées de 5 μ de diamètre environ, très souvent agglomerées montrant un assez gros noyau et un blépharoplaste prenant fortement la couleur" gefunden haben. Welche Formen waren nun die bei dem als gesund angenommenen Hunde?[1]) Folglich bleiben nur die Beobachtungen Massaglias und Marhalls ganz klar, bei denen keine Infektion bei ganz jungen Hunden erzielt wurde, die, wie auch aus den Versuchen Marshalls hervorgeht, der Leishmania gegenüber sehr empfindlich sind.

Wäre der Floh der hauptsächlichste Träger der Leishmania, was würde dann, wenn er so häufig den Menschen beißt, wie man annimmt, im Sudan geschehen, wo, wie gerade die neueren Forschungen Marschalls bewiesen haben, der Hund, und besonders der ganz junge, der Infektion durch Leishmania humana gegenüber sehr empfänglich ist, und wo zahlreiche Forscher (Thomson, Bousfield u. a.) gefunden haben, daß der Parasit sich im Verhältnis von 82—86 Proz. im peripheren Blute der von Leishmaniose Befallenen vorfindet. Ferner müßte, wenn Pulex irritans den Virus vom Menschen auf den Menschen und vom Menschen auf den Hund überträgt, die Leishmania humana sehr häufig sein, was aber durchaus nicht der Fall ist. Bei Annahme der Möglichkeit, daß Pulex serraticeps häufig ein Ektoparasit des Menschen und im Gegenteil P. irritans ein solcher des Hundes sei, müßte die Hunde-Leishmaniose sehr verbreitet sein, was aber durchaus nicht aus den bisher angestellten Untersuchungen hervorgeht.

Meine Bemerkungen gelten auch für Indien. Auch dort weisen die von innerer Leishmaniose Befallenen in 80 Proz. der Fälle den Parasiten im peripheren Blute auf. Nun fand man aber im Zentrum der Infektion,

1) Wenn sie mit denen des kranken Hundes identisch sind, so mußte es auch der vermutlich gesunde sein, und dann fehlte das zum Vergleiche nötige Gegenstück.

in Madras, unter 1500 untersuchten Hunden keine einzige Leishmania! Nur Castellani hat die Hunde-Leishmania angetroffen, doch ist sie seiner mündlichen Angabe nach sehr selten (Franchini). Bedenkt man nun, daß dort die Krankheit ausgedehnte und schwere Epidemieen aufweist und daß der Parasit fast stets im peripheren Blute vorhanden ist und die Hunde sich nicht infiziert erweisen, trotz des Zusammenlebens mit den Einheimischen, so kann man mit vollem Rechte daraus folgern, daß sowohl der menschliche wie der Hundefloh sowohl im Sudan wie in Indien durchaus nicht der Ueberträger des Parasiten vom Hund auf den Hund oder vom Hund auf den Menschen, noch vom Menschen auf den Menschen, noch auch vom Menschen auf Hunde ist. Eine volle Bestätigung dieser Behauptung liefern uns die neueren Forschungen Marschalls, die wir weiter oben erwähnt haben. Nebenbei füge ich noch hinzu, daß Pulex serraticeps nicht imstande war, die Infektion von einem infizierten Affen auf einen immunen zu übertragen, wie es ebenfalls dem eigenen Floh des Affen nicht gelang (Marshall). Bei Pulex irritans, die sich in den Betten und den Lagerstätten der Kranken finden, ist das Resultat sicherlich ein negatives. Diese Untersuchungen sollten die englischen Aerzte im Sudan und in Indien in weiterem Maße durchführen, um endlich eine sichere Prophylaxe der Krankheit zu erhalten!

Was die Uebertragung durch den Floh in Italien anbetrifft, so ist folgendes zu bemerken: Betrachten wir einmal die Bedingungen, unter denen die Uebertragung eintreten müßte. Der Floh muß den Keim aufsaugen, indem er in die Haut des Hundes oder des Menschen sticht. Findet sich aber bei den in unserer Gegend an Leishmaniose Leidenden der Parasit im peripheren Blute? Nicolle fand ihn mit Hilfe des Blasenpflasters (aber nicht immer) sehr selten, indem er 2 ccm peripherisches Blut nahm und dasselbe zentrifugierte! In Italien haben ihn weder Gabbi, noch Feletti, noch Pulvirenti, noch Longo, noch Jemma, noch Scordo je gefunden. Daß er mit Hilfe des Blasenpflasters gefunden worden ist, ist in Wirklichkeit ohne große Bedeutung, denn es ist die Frage, ob die Anwesenheit des Parasiten mit der Läsion im Zusammenhange steht oder nicht. Da derselbe sich nicht im peripheren Blute anderer mehr oder weniger vom Entzündungsherde entfernter Stellen vorgefunden hat, sondern im Serum des Blasenpflasters, so muß man annehmen, daß der krankhafte Reiz ihn zeitweilig in das Blut zurückgerufen hat[1]). Jedenfalls ist es sicher, daß er sich fast nie im menschlichen peripheren Blute findet. Man könnte auf den Gedanken kommen, daß er in der Nacht auftritt, oder daß er sich im Blute in einer bisher noch nicht bekannten Form findet, doch sind dies nur Annahmen, die durch die darauf gerichteten Forschungen (Dr. Scordo) oder analoge Verhältnisse keine Stütze finden. Auch die Untersuchungen des peripheren Blutes eines auf experimentellem Wege infizierten Hundes ergaben, daß der Parasit sich nur ausnahmsweise in demselben findet.

Bedenkt man, daß im Sudan sich die Hunde- und Menschenflöhe nicht mit dem Parasiten im peripheren Blute infizieren und folglich nicht die Krankheit vom Hund auf den Hund und logischerweise auch nicht

1) Die Häufigkeit der Parasiten im peripheren Blute in Indien und im Sudan kann vielleicht dadurch erklärt werden, daß die Bewohner jener Gegenden wenig oder gar nicht bedeckt sind, Feinde der Hygiene sind. Auf ihrer Haut finden sich sehr häufig sowohl parasitäre als auch septische Verletzungen, und daher der Reizzustand, der wie das Blasenpflaster den Parasiten aus seinem gewöhnlichen Sitze, den blutbildenden Organen, locken kann.

vom Hunde auf den Menschen, noch vom Menschen auf den Menschen, noch vom Menschen auf den Hund übertragen wird, und daß bei uns Hunde- und Menscheninfektion stattfinden müßte, während der Parasit im Gegenteil sich nie im peripheren Blute der an Leishmania Erkrankten findet, so ergibt sich ein schreiender Widerspruch, der nur durch neue Beobachtungen und Forschungen beseitigt werden kann. Wenn ich ferner bedenke, daß es Franchini, wie auch Basile nicht gelungen ist, die Flöhe mittels der Kultur zu infizieren, und daß dies mir bisher nicht mit Milzsaft von infizierten Kindern gelungen ist, so muß ich bei meiner Ueberzeugung bleiben, die durch die Forschungen Massaglias und Marshalls eine wirkliche Stütze erhält.

Es ist dabei zu beachten, daß es sich nicht um die Verbreitung der Krankheit vom Menschen auf den Menschen durch Vermittelung von Pulex irritans handelt, die bisher noch nicht bewiesen worden ist, sondern um die vom Hunde auf den Menschen durch P. serraticeps. Es ist natürlich wahrscheinlich, daß das auch im Sudan, was wie Basile und Blanchard behauptet haben, wie in Europa sich die beiden Flöhe gleichzeitig beim Menschen und beim Hunde finden können!

Gesetzt ferner den Fall, den ich aber nicht für möglich halte, nämlich daß der Parasit sich häufig im peripheren Blute des Hundes und des Menschen vorfindet, so muß noch festgestellt werden, durch welchen Mechanismus uns der Floh denselben inokulieren kann. Lebt die Leishmania humana im Verdauungstrakt des Flohes, so könnte es der Fall sein, daß:

1) derselbe sich im Verdauungstraktus entwickelt und (wie?) in die Teile gelangt, welche den Humor ausscheiden,

2) daß er im Saugapparate bleibt und von hier aus durch die Punktur der Haut, die gleich darauf stattfindet, direkt eingeimpft wird.

Keine dieser Annahmen ist jedoch bisher durch tatsächliche Beobachtungen aufgeklärt worden. Alvares und Da Lima haben angenommen, daß die Infektion beim Menschen durch Ablagerung der die Leishmania enthaltenden Exkremente auf die epithellose Haut stattfindet. Wie das beim Hunde geschieht, darüber urteile der Leser!

Die Frage über den Ausgang des Kala-azars vom Hunde muß aber auch vom Standpunkte der Verbreitung der Krankheit aus betrachtet werden, wo nicht nur der eine, sondern beide Träger in der Lage sind, infiziert zu werden und selber zu infizieren. In anderen Worten, wenn sowohl Hunde- wie Menschenfloh fähig sind, die Krankheit zu übertragen, was muß dann in einem Hause geschehen, wo gleichzeitig Hund und Kind von der Leishmania befallen sind und noch andere Kinder vorhanden sind. Da sie der Gefahr ausgesetzt sind, sowohl von dem einen als von dem anderen Floh gestochen zu werden, die sich beide in intensiver Weise an der Virusquelle infizieren können, müßten sie leicht befallen werden können. Die klinische Erfahrung, die von Nicolle einbegriffen, beweist nun aber, daß es äußerst selten vorkommt. daß 2 Kranke zu gleicher Zeit in einer Familie vorhanden sind, weniger selten hingegen ist der Befund von 2 oder mehreren Kindern in derselben Familie in verschiedenen Zeitabschnitten. Diese Tatsache muß sicher befremden, denn die geeignetste Gelegenheit für die Erkrankung eines gesunden Kindes ist gegeben, wenn in dem Raume, in dem es sich aufhält, sich 2 Virusquellen befinden, ein Hund und ein Kind. Ebenso sonderbar und meiner Ansicht nach nicht leicht zu erklären ist die Tatsache, daß fast nie Vater noch Mutter der in verschiedenen Zeit-

räumen erkrankten Kinder befallen werden, und daß von Erwachsenen oder Adoleszenten in den Mittelmeerländern fast ausschließlich Männer erkranken, nicht aber Frauen, die doch die Trägerinnen par excellence der Flöhe sind und fast beständig das Kind in den Armen und bei sich im Bette haben.

Das Pulex irritans ohne jede Bedeutung als Träger des Virus ist, haben meine Untersuchungen im Jahre 1911 erwiesen. Ich brachte 4 an Leishmaniose leidende Kinder in das Malaria-Sanatorium zu Camaro, 2 derselben waren sehr schwer Kranke und wurden mit Kindern zusammengelegt, die von der Malaria genesen oder mit solchen, die kaum entwöhnt waren, wie auch mit Säuglingen, deren Mütter zugegen waren. Auf diese Weise vermehrte ich für Pulex irritans die Virusquellen und erleichterte die Infektion. Ferner ließ ich durch die Leiterin des Sanatoriums immune Kinder in das Bett anderer, an Kala-azar erkrankten Kinder legen, damit sie um so leichter von den Flöhen gebissen würden! Die Kinder blieben über 50 Tage miteinander in Berührung, im Jahre 1912 sogar über 60! Aber keins der immunen Kinder von 1911 wurde befallen und bisher auch kein einziges aus dem Jahre 1912. Es ist ferner zu bedenken, daß die gesunden Kinder einer Familie, in der sich ein an Leishmaniose Leidender befindet, in beständiger Berührung mit ihm leben, in demselben Bette oder in einem solchen in nächster Nähe schlafen, bei Vorhandensein vieler Flöhe und während einer längeren Zeit, als das in meinem Versuche der Fall war. Ich hebe nur hervor, daß ich mit 8 Kindern Versuche angestellt habe.

Wenn man nun, um die Leishmaniose eines Kindes in einem Hause zu erklären, wo keine Hunde sind, oder wo ein Hund, aber ein gesunder sich befindet, sich auf das Vorhandensein eines Hundes in dem unmittelbar daneben liegenden oder in einem entfernten Hause beruft, so sollte man das oben Gesagte erwägen und feststellen, ob in demselben Kinder leben oder nicht. Niemand, Jemma einbegriffen, hat daran gedacht, dies zu untersuchen und mitzuteilen! Ebenso ist zu erklären, warum in dem Hause der Hund gesund ist, während er doch empfänglicher dem Virus gegenüber als das Kind ist, und viel leichter von infizierten Flöhen gestochen wird. Man kann daher annehmen, daß Hunde, die sich in Häusern befinden, die in der Nähe derjenigen liegen, in welchem sich ein an Kala-azar erkranktes Kind befindet, Vermittler des Keimes sein können, wenn aus den Forschungen Nicolles selbst, wie auch aus denen Basiles und anderer Autoren hervorgeht, daß die Parasiten sich nicht oder nur äußerst selten im peripheren Blute finden, und wenn die beiden Yakimoff behaupten, ihn nie angetroffen zu haben, obgleich sie die Leishmaniose des Hundes am vollständigsten studiert haben. Gerade diese große Seltenheit des Parasiten im peripheren Blute des Hundes erklärt die Seltenheit der Fälle bei Kindern, trotz der unermeßlichen Zahl von Flöhen, die sich auf diesen Tieren finden.

Damit sind aber die Argumente, die welche Annahme Nicolles erschüttern, noch nicht erschöpft. Wenn der Hund der Träger des menschlichen Virus ist, und der Hundefloh, oder gelegentlich der Menschenfloh es einimpfen, so ist es nötig im allgemeinen anzunehmen:

1) Daß ein Parallelismus zwischen der Anzahl der Hunde und jener der durch Leishmania infizierten Kinder besteht;

2) daß im Sommer leichter Hundeinfektionen angetroffen werden müssen und man gleichzeitig oder in der Folge einer entstehenden Anzahl von Fällen bei Menschen beobachtete;

3) Daß, da daß Verhältnis der Hunde in der Stadt und in den Vorstädten ungefähr gleich ist, d. h. einer auf jede zweite oder dritte Familie, so ungefähr die Anzahl der befallenen Kinder aus der Stadtperipherie der im Innern der Stadt gleich sein müßt;

Bezüglich des ersten Parallelismus habe ich bereits hervorgehoben, daß derselbe in den Untersuchungen, welche bezüglich der Versuche Nicolles und Sergents vorgenommen werden, fehlen. Doch ist hier noch zu bemerken,

a) daß Basile in Bordonaro unter 34 untersuchten Hunden 27 kranke fand, während die Durchschnittszahl der in einem Jahre beobachteten Fälle beim Menschen (Kind) 2—3 beträgt. Im Jahre 1911 wurden 3 Fälle und 1912 2 Fälle beobachtet, obwohl ein wahres Blutbad unter den infizierten Hunden angerichtet worden sein soll;

b) daß Basile in Rom unter 60 untersuchten Hunden 16 infizierte vorgefunden hat und nur ein einziger Fall bei einem Kinde (Concetti) beobachtet worden ist. Der in der medizinischen Klinik beobachtete Fall, ein 19-jähriger junger Mann, stammte aus Fiumicino (Basile und Fulci;

c) daß die beiden Sergent in Algier nur 1 an Leishmaniose befallenes Kind gesehen haben, obwohl sie 7,2 Proz. der Hunde infiziert fanden;

d) daß Pulvirenti in Catania nur 1 Proz. der Hunde infiziert fand, während die Krankheit unter den Kindern stark verbreitet ist;

e) daß in Palermo, trotz der neuerdings von Caronia gemachten Feststellung einiger von Leishmaniose befallenen Hunde in den nahen Dörfern stets ein enormes Mißverhältnis zwischen infizierten Kindern und Hunden besteht!

Im großen und ganzen kann man sagen, daß ein Parallelismus nicht besteht, was von besonderer Wichtigkeit ist, wenn man die Angaben über das Fehlen von Hunden in einer großen Anzahl von Familien (Spagnolio, Nicolle), die von der Krankheit betroffen sind, und den äußerst geringen Prozentsatz der infizierten Hunde in den Wohnungen erkrankter Kinder bedenkt.

Bezüglich des zweiten Punktes weiß man aus den von Nicolle, den beiden Yakimoff und den beiden Sergent ausgeführten Forschungen, daß die Infektion im Frühjahr eine minimale (1,7), im Sommer eine maximale (7,2) ist. Wenn der Keim des Kindes im Sommer durch den Hundefloh inokuliert wird, wo der Hund stärker infiziert wird als im Winter, da im Sommer die Flöhe am meisten stechen, wann sollte man dann die meisten Fälle erwarten? Angesichts der langen Inkulationsperiode der Krankheit müßte sich der Beginn derselben in der Mitte oder am Ende des Sommers und in den ersten Tagen des Herbstes zeigen und sich durch Splenomegalie und Anämie gegen Ende des Herbstes oder Anfang des Winters bekunden. In Italien besteht jedoch die „Frühjahrswiederkehr“ der Krankheit. In Tunis zeigt sich, wenn man die 30 von Nicolle und seinen Schülern veröffentlichten Beobachtungen durchsieht, daß 27 dieser Fälle sicher in den folgenden Monaten begannen:

Januar	2 Fälle
Februar	3 „
März	3 „
April	5 „
Mai	7 „
Juni	1 Fall

Juli	2 Fälle
August	1 Fall(?)
September	1 „
Oktober	—
November	1 Fall
Dezember	2 Fälle

Das Ergebnis dieser Untersuchungen muß überraschen, denn während es das Auftreten der Krankheit im Frühjahre bestätigt, worauf ich schon seit langer Zeit die Aufmerksamkeit der Forscher gelenkt habe, beweist es, daß wenn die Infektion der Hunde eine minimale, die der Kinder eine maximale ist, und umgekehrt, wenn die der Hunde eine maximale ist, so ist die der Kinder eine minimale oder null. In der Tat fehlen ganz oder fast sowohl in der Statistik Nicolles wie in der unserigen die Fälle bei Kindern in den Monaten August, September, Oktober und November! Jede weitere Bemerkung hierzu ist überflüssig!

Kommen wir nun zum dritten Punkte, zur ungefähr gleichen Anzahl von Fällen im Zentrum einer Stadt oder in den Vorstädten, die sich ergeben müßte angesichts der fast gleichmäßigen Verteilung der Hunde auf die Familien. Eine genaue diesbezügliche Zusammenstellung hat Jemma geliefert, der unter 22 in Palermo beobachteten Kindern 19 in den Vorstädten und 3 in der Stadt fand. Ich und Feletti hatten bereits grosso modo behauptet, daß die Fälle viel zahlreicher in den Vorstädten als in dem Zentrum der Stadt seien. Wie ist dies aber möglich, wenn der Kontakt unter den Familienmitgliedern und Hunden in der Stadt größer ist als in den Familien der Vorstädte, wo die Hunde während der Nacht außerhalb des Hauses zum Schutze des Eigentums gehalten werden? Wie ist es möglich, daß dies sich nicht in der Stadt zeigte, wo doch nicht selten Luxustiere von Kindern geliebkost werden und mit denselben in direkte Berührung kommen? Folglich spricht doch eine ganze Reihe positiver Tatsachen gegen den Wert der Quellen über die Abstammung des Kala-azar vom Hunde.

Eine neuerdings von Concetti gemachte Beobachtung ist von großer Wichtigkeit, er fand einen Fall von Leishmaniose bei einem Kinde in Roccasecca, wo keine herrenlosen Hunde sind und die Haushunde nach der 1911 aufgetretenen Cholera selten sind. Das Kind erkrankte erst, nachdem die kranken Hunde verschwunden waren.

Wir kommen nun zur letzten und wichtigsten Frage über die zoologische Identität der Leishmania canis und der Leishmania hominis. Der Nachweis dieser Identität sollte von Nicolle gleichzeitig oder vor der Darlegung der Abstammung des Kala-azar infantum vom Hunde erbracht werden. Er behauptet die Identität, gestützt auf rein morphologische Angaben, doch legte er nicht sofort Kulturen an und noch weniger stellte er Untersuchungen an Versuchstieren an.

Die kulturellen Forschungen hingegen wurden von Basile und Visentini 1911 auf meine Anregung hin durchgeführt, da ich der Meinung war, daß mangels eines genauen Nachweises die beiden Leishmaniae als verschiedenartig betrachtet werden müßten. Die beiden Forscher stellten Kulturen mit dem Knochenmarke eines infizierten Hundes an, und erhielten sofort ein positives Resultat. Die Identität der erzielten Leishmania mit der menschlichen ist durch den Vergleich der beiden Forschern von Nicolle und Mesnil übersandten Proben von Leishmania hominis festgestellt worden. Sie haben aber weder Ueberpflanzungen der Kulturen noch experimentelle Forschungen an Eiern angestellt. Nicolle lud die beiden Yakimoff (26)

nach Tunis gegen Ende des Jahres 1911, d. h. $3^1/_2$ Jahre nach Bekanntmachung der Abstammung des Kala-azar vom Hunde, ein, um die Versuche zu wiederholen. Wie die beiden italienischen Forscher, so impften auch sie in den Nährboden NNN den Saft des Knochenmarkes dreier infizierter Hunde ein, doch nur in einem Falle war das Resultat positiv; die Geißelformen erschienen am 6. Tage der Ueberpflanzung. Die ausgeführten Uebertragungen blieben aber ohne Erfolg; experimentelle Forschungen an Versuchstieren wurden nicht angestellt. Erst in letzter Zeit erkannten zuerst Sénevet (27) und dann Nicolle (28) die Notwendigkeit, diese große Lücke auszufüllen und versuchten Hunde und Affen durch Leishmania, von natürlich infiziertem Hunde, zu infizieren. In 2 von 5 Versuchen (3 Hunde und 2 Affen) war das Resultat ein positives.

Wenn wir einige Tatsachen übergehen, die den Nachweis noch nicht mathemathisch sicherstellen, genügt es mir im Grunde doch, daß die kulturellen Versuche und die nötigen Experimente der Lehre Nicolles eine rationelle Grundlage 3 Jahre nach der Bekanntgebung derselben geben. Ich verlangte den Beweis für diese Behauptung besonders nachdem ich mit Ueberraschung den bekannten Satz: „Cette constatation de trois cas de Leishmaniose chez les chiens habitant les maisons des enfants malades confirme notre conception de l'origine canine de la maladie" gelesen hatte, nachdem Basile in Bordonaro und in Siderno Marina infizierte Hunde gefunden hatte. Ich verlangte ihn auch, da ich verschiedene kranke Kinder in Häusern gefunden hatte, wo zu der Zeit, in welcher das Kind erkrankte, keine Hunde gewesen waren, noch gegenwärtig waren. Warum hat aber Nicolle nach dieser Entdeckung und angesichts der Unwirksamkeit sämtlicher Heilmittel, die er und seine Schüler in ausgedehntem Maße versucht haben, in seiner Eigenschaft als Leiter des Pasteurschen Instilutes und des öffentlichen Gesundheitswesens in Tunis der Regierung des Bey nicht die Zählung der infizierten Hunde und deren Vernichtung vorgeschlagen? Wenn England auf Malta wegen einer nie oder fast nie tödlich wirkenden Krankheit, des Mittelmeerfiebers, eine Zählung der Ziegen vorgenommen und die Milch, die Verbreiterin des Keimes, überwacht und untersucht und vorgeschlagen hat, die Ziegen in die Lazarette aufzunehmen und zu schlachten, mußte man da nicht um so mehr in Tunis diese Zählung vornehmen, und zwar um so mehr, weil die Beseitigung der infizierten Hunde weniger kostspielig gewesen wäre? Die in $3^1/_2$ Jahren in Tunis gesammelten 30 Beobachtungen stellen natürlich nicht die Gesammtheit der Fälle von Kala-azar dar; diese würde sicher bedeutend höher sein, wenn alle Aerzte die in ihre Behandlung kommenden Fälle zur Anzeige brächten! Auch bei uns schien anfangs die Zahl derselben gering, als aber fast sämtliche Aerzte unser lebhaftes Interesse an der Feststellung der Fälle sahen und daran teilnahmen, wuchs die Zahl der betreffenden Angaben, so daß man jetzt annehmen kann, daß in Süditalien und auf den Inseln alljährlich wenigstens 1000 Kinder sterben.

* * *

Ich habe alles, was bisher über den Ursprung des Kala-azar vom Hunde bekannt war, einer genauen Durchsicht mit aller Objektivität unterzogen. Würde man den Beweis bringen, daß ich im Irrtume bin, so bin ich bereit, denselben anzuerkennen.

Literatur.

1) Nicolle, C., Reproduction expérimentale du Kala-azar chez le chien. Origine canine probable de la maladie. (Bull. Soc. de pathol. exot. 1908. No. 3; Bull. d. scienc. méd. de Tunis. 1908. mai 11; Compt. rend. de l'Acad. des scienc. de Paris. T. 146. 1908; Bull. Soc. de pathol. exot. 1911. No. 1.) — Nicolle, C., Comte, C., Maneaux, L., Kala-azar expér. du chien. (Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis. 1908. Fasc. 2—4; ibid. févr. 1909). — Nicolle, C., A propos de la Leishmaniose canine en Afrique etc. (Bull. Soc. de pathol. exot. 1911. p. 10.) — Statistique des trentes première observations tunisiennes de kala-azar. (Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis. 1912. Fasc. 2.)
2) Jemma e Cannata, La Pediatria. Ser. 2. Vol. 8. 1910. No. 4.
3) Gabbi e Visentini, Pathologica. 1910. No. 35.
4) Yakimoff, W. L., e Kohl-Yakimoff, Nina, Bull. Soc. de pathol. exot. 1911. No. 7.
5) Sergent, Ed. et Et., Bull. Soc. de pathol. exot. 1910. No. 8. — Sergent, Ed. et Et., Lombard, Quilichini, ibid. 1912. No. 2.
6) Basile, Alcune osservazioni sulla presenza di Leishmanie nei cani. (Atti Reale Acc. dei Lincei. Rendic. Ser. 3, Vol. 19. 1911. Fasc. 3. — Id., Sulla Leishmanioni del cane e sull'ospite intermedio del Kala-azar infantile. (Ibid. Ser. 5. Vol. 19. Fasc. 10.). — Id., Ser. 5. Vol. 20. 1911. Fasc. 1. — Id., Ser. 5. Vol. 20. 1911. Fasc. 4. Id., Ser. 5. Vol. 20. 1911. Fasc. 6. — Id., Ser. 5. Vol. 20. 1911. Fasc. 12. — Id., Ser. 5. Vol. 20. 1911. Fasc. 20. — Id., La Cava e Visentini, Sopra un caso di Leptomeningite da Leishmania. (Ibid. Ser. 5. Vol. 20. 1911. Fasc. 2. — Id. e Visentini, A., Sulla identità della Leishmaniosi. Nota 1. (Ibid. Ser. 5. Vol. 20. 1911. Fasc. 8.)
7) Gabbi, N., Riv. critica di clin. med. Firenze 1910.
8) Wenyon, Kala-azar. (Bull. 1911. p. 34.)
9) Porter, A., Parasitology. Vol. 4. 1911. p. 237.
10) Fantham, Malaria e malatt. dei paesi caldi. 1912. p. 276—277.)
11) Nöller, Ibid. 1912.
12) Sangiorgi, Sulla presenza di forme di Leishmania infantum (Nicolle) nella pulce dei cani randagi di Catania. (Pathologica. 1911, Gennaio 15; Marzo 1; Luglio 1.)
13) Marzocchi, Di un flagellato parassito del tubo digerente del Ctenocephalus canis. (Pathologica. 1911. Giugno 1.)
14) Wenyon, l. c.
15) Pulvirenti, La Leishmaniosi del cane a Catania. (Pathologica. 1911. Maggio 1.)
16) Pantò, Gazz. d. Osped. e d. clin. 1912. No. 33.
17) Alvares e Da Lima, Med. contemp. Lissabon 1910. p. 162; 1911. p. 197. 216.
18) Critien, Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis. 1910. Fasc. 2.
19) Babington, Journ. of trop. Med. and Hyg. 1911.
20) Cardamatis, Bull. Soc. de pathol. exot. 1911. No. 4.
21) Jemma, Pathologica. 1910. Giugno 1 u. 1912. Luglio.
22) Franchini, Malaria e mal. dei paesi caldi. 1911. Fasc. 4.
23) Gabbi, Malaria etc. Okt. 1911.
24) Massaglia, Pathologica. 1912. 1. Juni.
25) Marshall, Journ. of the Royal Army and med. Corps. Sept. 1912. — Sergent, Et. et Ed., Lheritier, A., et Lemaire, G., Bull. Soc. de pathol. exot. 1912. No. 8.
26) Yakimoff, W., u. Kohl-Yakimoff, N., l. c.
27) Sénevet, Kala-azar Bull. No. 3. p. 139.
28) Nicolle, Bull. Soc. pathol. exot. T. 5. 1912. p. 351—355.

Nachdruck verboten.

Einige Untersuchungen über komplementbindende Antistoffe bei experimenteller und spontaner Tuberkulose sowie bei paratuberkulöser Darmentzündung[1].

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Versuchslaboratoriums der Kgl. tierärztlichen und landwirtschaftlichen Hochschule zu Kopenhagen. Vorstand: Prof. Dr. med. B. Bang.]

Von

Oluf Bang, und **C. W. Andersen,**

Tierarzt, Assistent Tierarzt, Assistent.

Mit 3 Kurven im Text.

Die Komplementbindungsmethode beruht bekanntlich darauf, daß bei Vermischung von Antigen und antistoffhaltigem Serum gewisse Stoffe (sogenanntes Komplement) im Serum verschwinden. Diese Bindung des Komplements wird durch Zusatz eines hämolytischen Systems sichtbar gemacht.

Bei unseren Untersuchungen benutzten wir eine Emulsion von Tuberkelbacillen als Antigen und versuchten, ob wir mit diesem Antigen Antistoffe im Blute von tuberkulösen Tieren oder von Kühen nachweisen konnten, die von der spezifischen chronischen Darmentzündung angegriffen waren, und festzustellen, ob dieser Nachweis eine diagnostische Bedeutung habe. Das von uns untersuchte Serum war erst inaktiviert (bis auf 56° C erwärmt) worden. Als Komplement benutzten wir Meerschweinchenserum. Serum, Antigen und Komplement wurden in Reagensgläser mit einer physiologischen Kochsalzlösung abpipettiert, die derart abgestimmt war, daß wir mit einem konstanten Raumgehalt von 3 ccm Flüssigkeit arbeiteten.

Wir stellten mehrere Versuche an, um festzustellen, wie lange es dauert, bevor das Komplement gebunden werde. Seren mit großem Antistoffgehalt können bei Vorhandensein von reichlich Antigen im Verlaufe von 5—10 Minuten alles Komplement binden, Seren mit geringerem Antistoffgehalt gebrauchen dazu 20—30 Minuten.

In unseren Versuchen ließen wir Serum-Antigen-Komplement 40 Minuten im Wasserbade stehen. Als hämolytisches System verwendeten wir Ziegenblutkörperchen und inaktiviertes Kaninchenserum von einem zu wiederholten Malen mit Ziegenblutkörperchen intravenös behandelten Kaninchen.

Wir benutzten gewöhnlich eine 2-proz. Ziegenblutaufschwemmung, wovon wir 1 ccm zusetzten. Das Hämolysin benutzten wir gewöhnlich in einer Stärke von 1 : 1000, bisweilen jedoch 1 : 500 oder 1 : 2000. Davon setzten wir gleichfalls 1 ccm hinzu, so daß die endgültige Flüssigkeit 5 ccm betrug.

Das Hämolysin wurde vor jedem Versuch austitriert. Die angewandte Flüssigkeit betrug stets wenigstens 2—3 mal das Titer, oft 4—6 mal, bisweilen 8—15 mal.

Dies Verfahren, das Vorhandensein der Antistoffe darzutun, ist ja außerordentlich nett und anscheinend auch recht einfach; leider geht

1) Vorgetragen in der Biologischen Gesellschaft in Kopenhagen, 28. Nov. 1912.

es in praxi nicht immer so leicht, vielleicht namentlich nicht, wenn man mit säurefesten Bacillen oder deren Derivaten als Antigen arbeitet.

Man muß erstens darüber im reinen sein, daß man tatsächlich, weil in den Reagensgläsern Hämolyse auftritt, durchaus nicht schließen darf, daß sich in den untersuchten Seren keine Antistoffe finden; man kann daraus nur folgern, daß sie nicht in so großer Menge vorhanden sind, daß sie in dem gegebenen System imstande waren, eine Komplementbindung zu ergeben. Ob überhaupt eine vollständige oder teilweise Komplementbindung eintritt, ist von wenigstens 3—4 Momenten abhängig, nämlich 1) von der Menge der Antistoffe des zu untersuchenden Serums, 2) vom Vorhandensein genügenden Antigens, 3) vom Vorhandensein eines nicht zu großen Ueberschusses an Komplement, und 4) spielen schließlich der Zeitraum, in dem die Mischung Antistoff-Antigen-Komplement aufeinander gewirkt haben, und vielleicht auch die Temperatur, bei der die Mischung aufbewahrt wurde, eine bedeutende Rolle.

1) Die Menge der Antistoffe kann man natürlicherweise vermehren, indem man eine größere Serummenge nimmt; es wird aber von allen Forschern behauptet, daß die Reaktion nur als spezifisch betrachtet werden kann, wenn man mit einer ganz geringen Serummenge arbeitet. Außerdem kann Rinderblut Hämolysine gegenüber Ziegenblutkörperchen enthalten und, obschon inaktiviert, vielleicht auch etwas Komplement. Daß dies Verhältnis einige Bedeutung hat, hatten wir Gelegenheit zu beobachten, indem wir öfters bemerkten, daß das Serum einzelner Kühe in einer Menge von 0,05 ccm bedeutend bessere Bindung ergab als die doppelte Menge. Wir arbeiteten daher in so gut wie allen Versuchen mit Serummengen von 0,1 und 0,05 ccm, nur in ganz wenigen Versuchen mit Mengen von 0,2 und 0,05 ccm; größere Mengen als 0,2 ccm haben wir nie angewandt.

2) Es ist an und für sich ein Vorteil, ein starkes Antigen zu haben, indem man dann bei geringerem Antistoffgehalt Bindung erzielen wird. Andererseits hat unser Antigen, das aus einer Tuberkelbacillenemulsion von 3 g abgetöteter, nach dem Abdruck mit Filtrierpapier gewogener Tuberkelbacillen zu 1000 g Wasser besteht, die unangenehme Eigenschaft, auf die Hämolyse hemmend zu wirken, und zwar in sehr verschiedenem Grade bei den verschiedenen Versuchen. Wir stellten immer 1 l Antigenemulsion auf einmal her, so daß wir Monate hindurch mit demselben Antigen arbeiten konnten. Trotzdem ergab es sich als notwendig, daß wir uns vor jedem einzelnen Versuch davon überzeugten, daß das Antigen nicht binde, indem wir Antigen und Komplement mischten und die Mischung 30—40 Minuten auf dem Wasserbad stehen ließen, bevor das hämolytische System zugesetzt wurde. Die Erfahrung lehrte uns, daß man diese vom Antigen hervorgerufene Bindung leichter überwindet, wenn man mit einem recht hohen Hämolysintiter arbeitet. Die von uns gewöhnlich angewendete Antigenmenge betrug 0,2—0,5 ccm (0,6—1,5 mg Tb.) einer bestimmten Tuberkelemulsion. Wir verlangten von unseren Antigenkontrollen stets eine vollständige Hämolyse.

3) Das Komplement muß man bei jedem Versuch austitrieren, da ein zu großer Ueberschuß an Komplement bewirken wird, daß man bei allen schwächer bindenden Seren Hämolyse erhält. Wir arbeiteten meistens mit einer Komplementmenge von 30—40 Proz. über das Titer.

Was das Hämolysin betrifft, mußten wir mit einem hohen Titer arbeiten, um die Eigenbindung des Antigens zu überwinden. Dasselbe läßt sich selbstverständlich durch Verdünnung des Antigens erzielen,

aber oft wird man gezwungen sein, es in hohem Grade zu verdünnen, falls es wirken soll, und in dem Falle wird man bei den schwach bindenden Seren keine Bindung erhalten. Wir zogen es somit vor, mit einem starken Hämolysin zu arbeiten, wandten es jedoch nie in größerer Menge als 1 : 500, in den meisten Fällen in einer Stärke von 1 : 1000 oder 1 : 2000 an. Konnte das Hämolysintiter nicht hoch genug werden, um die Antigenbindung aufzuheben, so verdünnten wir die Blutlösung.

Das von uns angewendete System hat sich im großen ganzen sehr gut bewährt, bisweilen periodenlang fast wie ein Ideal; es läßt sich aber leider nicht leugnen, daß es ab und zu, und zwar auffällig häufig in Perioden, wo wir neulich eine neue Antigenemulsion hergestellt hatten, plötzlich Streik erklärte, indem das Antigen in einem solchen Grade zu binden begann, daß es, wie wir auch das System einstellen mochten, eine Bindung ergab. Daß dies vom Antigen herrührte, war deutlich, denn ohne dasselbe funktionierte das hämolytische System vorzüglich. Es zeigte sich, daß das Meerschweinchenserum den Uebelstand verschuldete, indem Antigen und Meerschweinchenserum Komplementbindung hervorbrachten und dadurch den Komplementgehalt des letzteren verbrauchten. An und für sich kann das kaum wundernehmen, da man weiß, daß frisches Serum anderer Tierarten in Verbindung mit nicht spezifischen Antigenen imstande ist, Komplement zu binden. So wird nicht erwärmtes Serum vollständig gesunder Kühe nicht selten Komplementbindung mit Tuberkelbacillen ergeben.

Daß tatsächlich das Meerschweinchenserum in solchen Fällen den Uebelstand verschuldet, läßt sich leicht dartun, indem man imstande ist, die 3 übrigen Faktoren, das Antigen, die Blutlösung und das Hämolysin unverändert sein zu lassen und nur das Komplement abzuändern. Zu der einen von zwei ganz gleichen Reihen von Gläsern setzten wir das verdächtige Meerschweinchenserum, zu der anderen Serum eines neuen Meerschweinchens. In der ersten Reihe erfolgte vollständige Bindung, in der anderen glatte Hämolyse. Zur weiteren Sicherstellung stellten wir eine neue Blutaufschwemmung mit Blut einer anderen Ziege dar. Das Resultat war ganz dasselbe.

Es besteht kein Zweifel, daß eben dieser Umstand, daß die Meerschweinchenseren sehr verschiedenartig sein können, uns Schwierigkeiten bereitet hat. Leider wird man dieser Bindung zwischen Antigen und Meerschweinchenserum kaum vorbeugen können; es hat aber eine große praktische Bedeutung, zu wissen, wo der Fehler liegt, da man dann ein neues Meerschweinchen nehmen kann, statt Zeit und Mühe zu verlieren, indem man sich bemüht, das System mit dem bindenden Serum zum Wirken zu bringen, was, wenn es auch gelingt, doch kein ganz befriedigendes Resultat ergibt, jedenfalls nicht, wenn es sich um die Untersuchung schwach bindender Seren handelt.

Beim Versuch, die Komplementbindung zu diagnostischen Zwecken zu verwenden, muß man erst ins reine bringen, ob die Reaktion auch eine spezifische ist. Alle Forscher, die sich mit dieser Frage beschäftigten, sind indessen darüber einig, daß die Reaktion nicht in dem Sinne spezifisch ist, daß Seren von tuberkulösen Individuen nur mit Tuberkelbacillen oder Tuberkulin Komplementbindung ergäben. Die Reaktion darf nur als eine spezifische Gruppenreaktion aller säurefesten Bacillen betrachtet werden.

Bereits Bordet und Gengou haben dargetan, daß mit Geflügelbacillen infizierte Meerschweinchen komplementbindende Antistoffe sowohl

gegen Geflügelbacillen als gegen Menschenbacillen bilden. Später hat Gengou diese Versuche fortgesetzt und durch Meerschweincheninfektionen teils mit pathogenen, teils mit saprophytischen säurefesten Bacillen dargetan, daß die Meerschweinchen im allgemeinen komplementbindende Antistoffe bilden, die nicht nur gegenüber homologen Mikrobien, sondern auch gegenüber anderen säurefesten Stäbchen aktiv sind. Wir haben selbst mehrere Versuche mit Kaninchen angestellt, die wir mit Timotheebacillen, Farcin de boeuf und Bacillen von einem spontanen Falle chronischer Enteritis (Paratuberkulose) einer Ziege infizierten.

Wir prüften Seren von diesen Tieren gegenüber unserem gewöhnlichen Antigen, einer Tuberkelbacillenemulsion; es zeigte sich, daß sie alle, kürzere oder längere Zeit nach der Injektion Antistoffe enthielten. Mit Timotheebacillen wurden im ganzen 6 Kaninchen geimpft, alle subkutan mit 5 cg lebenden Bacillen. Außerdem impften wir 6 andere Kaninchen mit abgetöteten Rinderbacillen und 10 Kaninchen subkutan mit lebenden Rinderbacillen. Der Zweck der Impfung dieser recht großen Anzahl von Kaninchen war teils eine Untersuchung der Antistoffbildung bei tuberkulösen Kaninchen, teils speziell eine Untersuchung des Einflusses verschiedener Arten von Tuberkulin (hergestellt teils aus pathogenen, teils aus saprophytischen säurefesten Bacillen) auf die Antistoffbildung bei Tieren, die teils mit homologen, teils mit heterologen Bacillen geimpft waren. Es ist nämlich von Untersuchungen an tuberkulösen Menschen her eine wohlbekannte Tatsache, daß wiederholte Tuberkulininjektionen meistens den Antistoffgehalt des Blutes steigern. Wir gingen nun davon aus, daß der Antistoffgehalt des Blutes der mit abgetöteten Tuberkelbacillen und mit nicht pathogenen säurefesten Stäbchen geimpften Kaninchen schnell sinken würde. Wir meinten uns berechtigt, dies aus unseren Untersuchungen über den Antistoffgehalt bei Pferd A (siehe Kurve 1) zu folgern. Dies ergab sich aber als irrtümlich, indem der Antistoffgehalt sehr lange unverändert bleibt, so daß die geplanten Tuberkulinversuche sich nicht durchführen ließen.

Die Antistoffbildung bei den geimpften Tieren haben wir nun mehrere Monate hindurch beobachtet, indem wir mit gewissen Intervallen, zu Anfang von 6—7 Tagen, später von längerer Dauer, die Kaninchen zur Ader ließen, zu dem gewonnenen Serum Karbol hinzusetzten und es im Eisschrank verwahrten, um, wenn wir eine gewisse Anzahl Proben erhalten hatten, diese auf einmal zu titrieren. Dadurch konnten wir unsere Seren während der Titrierung unter gleiche Verhältnisse bringen und dieselbe Blutaufschwemmung, dasselbe Meerschweinchenserum, dasselbe Hämolysin, dasselbe Antigen erhalten.

Wir meinen uns also berechtigt, zu folgern, daß den Verschiedenheiten des Antistoffgehaltes, die wir in den verwahrten Seren antrafen, auch Schwankungen des Antistoffgehalts im Blut der Tiere während der Versuchsperiode entsprechen. Es ließe sich natürlicherweise einwenden, daß die verschiedenen Serumproben ungleich lange aufbewahrt waren, was jedoch kaum von Bedeutung ist, da die Antistoffe, unserer Erfahrung nach, die auf Titrierung derselben Reihen von Seren mit monatlichen Intervallen beruht, sich lange Zeit hindurch unverändert zu erhalten scheinen. Es findet jedoch vielleicht im Laufe der ersten Tage nach der Hervornahme einige Schwächung des Antistoffgehalts statt.

Betrachten wir nun die Titrierung von den Kaninchen genauer und sehen uns Tabelle I, subkutan mit abgetöteten Rinderbacillen geimpfte Kaninchen, an, so zeigt es sich, daß schnell, bei 2 bereits nach 7 Tagen,

bei 5 nach 13 Tagen, vollständige Bindung eintrat. Nach 19 Tagen binden sie alle und fahren damit fort. Die Titrierung fand statt mit 0,1 ccm Serum.

Tabelle I.

Datum	Subkutan mit 5 cg abgetöteten Rinderbacillen geimpft						Datum	Subkutan mit 5 cg lebenden Timotheebacillen geimpft					
	277	278	279	280	281	282		283	284	285	286	287	288
22. Mai	100	100	100	100	100	100	28. Mai	100	100	100	100	100	100
29. „	—	0	70	0	70	50	29. „	—	—	—	—	—	—
4. Juni	0	0	0	0	0	50	4. Juni	0	30	0	60	50	0
10. „	0	0	0	0	0	0	10. „	0	20	0	60	50	0
17. „	0	0	0	0	0	0	17. „	0	20	5	60	50	0
24. „	0	0	0	0	0	0	24. „	0	10	50	60	50	0
2. Juli	0	0	0	0	0	0	2. Juli	0	10	5	30	20	0
8. „	0	0	0	0	0	0	8. „	0	0	0	0	0	0
17. „	0	0	0	0	0	0	17. Aug.	0	0	0	0	0	0
21. Aug.	—	0	0	0	0	0	21. Aug.	0	0	0	0	100	0
6. Sept.	0	0	0	0	0	0	6. Sept.	0	0	0	0	100	0

Die Zahlen rühren von 2 Titrierungen her (22. Mai bis 24. Juni und 2. Juli bis 6. Sept.).

Die Zahlen bilden keinen Ausdruck einer kolorimetrischen Beurteilung in dem Sinne, daß sie aus einer Vergleichung mit einer kolorimetrischen Skala hervorgegangen sind, die aus der Blutlösung, womit wir arbeiteten, hergestellt wurde. Die Zahlen von 0—10 bedeuten vollständige, oder fast vollständige Bindung, 20—30 starke Bindung, 50—100 mehr oder weniger vollständige Hämolyse.

Betrachten wir die mit lebenden Timotheebacillen subkutan geimpften Kaninchen, so zeigt es sich, daß sie sich etwas verschieden verhalten: 2 bekommen schnell einen bedeutenden Antistoffgehalt des Blutes und fahren die ganze Versuchsperiode hindurch zu binden fort, 3 binden erst nach 6 Wochen. 285 weist zu Anfang eine bedeutende Steigerung auf, sodann eine Abnahme und schließlich gegen Ende der Periode wiederum eine Steigerung.

Ein bedeutendes Interesse bieten die Kaninchen dar, die mit lebenden Rinderbacillen geimpft wurden, indem sie in ihrer Reaktionsweise ein ganz anderes Verhältnis aufzuweisen scheinen, als wir es bei unserer Arbeit mit Seren von tuberkulösen Rindern fanden, ein Verhältnis, das deutlich veranschaulicht, wie vorsichtig man mit Schlußfolgerungen von den Verhältnissen bei einer Tierart auf die bei anderen sein muß.

Betrachten wir nun die Kaninchen 249—252, so zeigt es sich, daß die benutzte Kultur nur sehr geringe Virulenz besessen hat, indem die 3 Kaninchen noch immer bei bestem Wohlsein sind; das 4. starb kurz nach der letzten Titrierung an Ohrenräude. Die Zahlen zeigen, daß offenbar während der Versuchsperiode bedeutende Schwankungen des Antistoffgehalts des Blutes bestanden haben. Die nächsten 4 Kaninchen 253—256 wurden dagegen mit einer virulenten Kultur geimpft. 253 starb an Tuberkulose; 254 und 255 wurden getötet; die Sektion ergab starke Tuberkulose. 256 lebt dagegen noch (das Kaninchen, 1. Dez. an Ohrenräude gestorben, hatte nur unbedeutende Tuberkulose). Den betreffenden Zahlen nach scheint es 255 schwer gefallen zu sein, überhaupt Antistoffe in nachweisbarer Menge zu bilden, indem solche sich nur in einer Probe, und zwar in geringer Menge nachweisen ließen. Den 3 ersteren gemeinsam ist, daß der Antistoffgehalt

Tabelle II.

Datum	Subkutan mit lebenden Rinderbacillen geimpft								Datum	Subkutan mit lebend. Rinderbac. geimpft	
	249	250	251	252	253	254	255	256		275	276
17. Febr.	4 cg Tb.	2 cg Tb.	4 cg Tb.	4 cg Tb.	2 cg Tb.	2 cg Tb.	4 cg Tb.	4 cg Tb.	21. Mai	1 cg Tb.	0,2 cg Tb.
17. „	100	100	100	100	100	100	100	100	21. „	100	100
29. „	10	0	0	5	100	0	100	5	29. „	0	0
6. März	0	0	0	0	0	0	100	0	4. Juni	0	0
12. „	0	0	0	0	100	0	40	0	10. „	0	100
16. „	100	5	0	0	100	0	100	0	17. „	0	50
16. April	100	100	10	0	100	50	100	0	24. „	0	10
14. Mai	0	100	100	10	.	100	100	0	2. Juli	0	10
28. „	0	80	100	90	.	.	.	0	8. „	0	10
10. Juni	5	30	100	90	.	.	.	0	17. „	0	0
23. Juli	.	0	100	80	.	.	.	0	5. Sept.	0	100
3. Aug.	.	0	100	0	.	.	.	0			
7. Sept.	.	0	0	0	.	.	.	0			

Die Zahlen rühren von 2 Titrierungen her (17. Febr. bis 10. Juni und 23. Juli bis 7. Sept.).

249 wurde mit einem Rinderbacillenstamm geimpft, der uns von Direktor Malm, Christiania, überlassen worden war.

253—256 wurden mit virulentem Rinderstamm, 275 und 276 mit einem anderen virulenten Rinderstamm geimpft.

249 starb 31. Juli 1912 an Ohrenräude; Sektion: Tuberkulöser Abszeß an der Impfstelle.

253 starb 13. Mai 1912; Sektion: Tuberkulose an der Impfstelle, in Lungen, Leber und Nieren.

254 wurde 20. Mai 1912 geschlachtet; Sektion: Tuberkulose an der Impfstelle, ausgebreitete Tuberkulose in den Lungen, vereinzelte Knoten in den Nieren.

255 wurde 20. Mai 1912 geschlachtet; Sektion: Tuberkulose an der Impfstelle, ausgebreitete Tuberkulose in den Lungen, vereinzelte Knoten in den Nieren.

256 starb 1. Dez. 1912 an Ohrenräude; Sektion: Ein paar linsengroße tuberkulöse Knoten in den Lungen, sonst keine Spur von Tuberkulose.

275 starb 5. Sept. 1912; Sektion: Tuberkulose an der Impfstelle, ausgebreitete Lungentuberkulose, vereinzelte Knoten in den Nieren.

276 wurde 5. Sept. 1912 geschlachtet; Sektion: Zahlreiche Abszesse in der Subcutis, Tuberkulose an der Impfstelle, Lungentuberkulose in mäßigem Grad, 2 Knoten in der einen Niere.

bedeutend abnimmt oder vielleicht ganz aus dem Blut verschwindet, je nachdem die Tuberkulose sich ausbreitet. Dies steht im schroffsten Gegensatz zu den von uns beim Rind beobachteten Verhältnissen, wo wir ohne Ausnahme feststellen konnten, daß die Seren um so viel sicherer binden, je stärker tuberkulös die betreffenden Tiere sind. 256 bindet die ganze Zeit hindurch stark. Man wird dies unwillkürlich mit dem Umstand in Verbindung bringen wollen, daß dies Tier der Tuberkulose gegenüber weit widerstandsfähiger scheint als die 3 anderen. 275 und 276 zeigen jedoch, daß man mit zu weit gehenden Schlußfolgerungen vorsichtig sein soll. Diese beiden Kaninchen wurden mit einem anderen virulenten Rinderstamm geimpft. 275 starb 5. Sept. 1912 an Tuberkulose; trotzdem enthielt sein Blut die ganze Zeit hindurch bedeutende Mengen Antistoff. Zu bemerken ist jedoch, daß das Kaninchen leider die letzten $1^1/_2$ Monate vor dem Tode nicht untersucht wurde, und daß die letzte Titrierung mit Kadaverserum stattfand und somit vielleicht nicht mit den übrigen völlig vergleichbar ist.

276 weist wie mehrere der übrigen Kaninchen eine bedeutende Schwankung während der Versuchsperiode auf. Hier machten sich je-

doch Verhältnisse geltend, die einer besonderen Besprechung wert sein dürften. Am 10. Juni, wo bei der Titrierung eine bedeutende Abnahme des Antistoffgehalts vorlag, war das Kaninchen vom Partner zuschanden gebissen und dem Tode nahe. Es wurde dann für sich in einem Käfig untergebracht, erholte sich wieder und gleichzeitig nahm der Antistoffgehalt wieder zu. Am 17. Juli schien es gesund. — Bei der Untersuchung am 5. Sept. war es indessen in einer elenden Verfassung und am ganzen Körper voll von großen Abszessen, die offenbar eine Folge der Bißwunden waren. Es war unmöglich, den Ohren Blut zu entnehmen, weshalb das Kaninchen getötet wurde. Bei der Titrierung zeigte es sich, daß die Antistoffe wieder verschwunden waren.

Man kann selbstverständlich aus einem solchen vereinzelten Falle nichts Bestimmtes schließen. Wir meinen jedoch, daß es vielleicht von Interesse sein kann, daß zufällige Krankheit und Schwächung eine Abnahme des Antistoffgehalts des Blutes zu bedingen können scheinen, indem man ja sowohl von Menschen als von Tieren her weiß, daß die Tuberkulose oft im Anschluß an Schwächungszustände auflodert.

In bezug auf die Tuberkulose liegt eine große Menge Arbeiten vor über Komplementbindungsversuche mit Seren von tuberkulösen Menschen. Die Ergebnisse sind recht verschiedenartig, durchgehends aber nicht gut. Die Untersucher, welche die besten Resultate erzielten, bekamen durchgehends nur positives Resultat in zirka der Hälfte von den Fällen, und zwar nur, wenn es sich um weit vorgeschrittene Tuberkulose handelte. Michaelis und Eisner[1]) konnten jedoch 79 Proz. positiver Fälle aufweisen. Sie arbeiteten mit Kochs Bacillenemulsion (Neutuberkulin) als Antigen und mit 0,025 ccm Meerschweinchenserum als Komplement, was übrigens eine so geringe Komplementmenge war, daß ein Teil ihrer Seren auch ohne Zusatz von Antigen eine merkbare Hemmung aufwies.

Seren von tuberkulösen Patienten, die längere Zeit hindurch mit Tuberkulininjektionen behandelt wurden, scheinen jedoch oft Komplementbindung zu ergeben.

Ueber das Verhältnis beim Rind liegen nur wenig Untersuchungen vor. Bach[2]) kam durch die Untersuchung von 55 Rinderseren zu dem Resultat, daß die Reaktion keine spezifische ist, indem Seren von gesunden und tuberkulösen Kühen sich bei Komplementbindungsversuchen in derselben Weise verhielten. Asmann[3]) fand unter 14 Seren von tuberkulösen Kühen 3, die vollständig banden, auch bei Vorhandensein von reichlichem Komplement. Die 3 Kühe waren alle stark tuberkulös.

Ruppel und Richmann[4]) fanden unter 27 tuberkulösen Rinderseren 5, die mit Tuberkulin als Antigen vollständige Bindung ergaben, während 7 unbedeutende Bindung aufwiesen. Von 33 untersuchten normalen Rinderseren banden 6.

Im Gegensatz zu diesen Untersuchern, die keine besonders guten Resultate erreichten, erzielte Hammer[5]) bei einer Untersuchung von 48 tuberkulösen Rinderseren positive Reaktion in 100 Proz. der Fälle. 48 normale Rinderseren ergaben nur in 2 Fällen positive Reaktion.

Hammer benutzte als Antigen eine Mischung von Rindertuberkulin und einem Alkohol- und Acetonextrakt von tuberkulösem Gewebe. Auch

1) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 6.
2) Inaug.-Dissert. Leipzig 1909.
3) Inaug.-Dissert. Dresden 1910.
4) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 6.
5) Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 39.

Tuberkulin allein ergab übrigens in allen Fällen vollständige oder starke Hemmung der Hämolyse.

Im Gegensatz hierzu fanden wir bei unseren Untersuchungen, daß Tuberkulin ein sehr schlechtes Antigen sei und überhaupt nur mit sehr bedeutende Mengen Antistoffe enthaltenden Seren zu binden imstande sei. Hammer benutzte eine etwas andere Technik als wir, indem er die Mischung von Komplement-Serum-Antigen 3 Stunden hindurch bei Zimmertemperatur aufeinander wirken ließ. Nachdem sensibilisiertes Rinderblut zugesetzt worden war, wurde das Resultat nach ca. 1-stündigem Aufenthalt im Thermostaten abgelesen. Wir haben einige Versuche mit der Hammerschen Technik angestellt, indem wir Tuberkulin als Antigen anwendeten. Wir untersuchten 12 Seren, die alle bei unserem gewöhnlichen Antigen banden; in keinem einzigen Falle erhielten wir Bindung, obschon mehrere sehr stark bindende Seren darunter waren.

Hammer gibt in seinem Aufsatz sehr pünktlich an, wie lange nach der Blutentnahme die verschiedenen Seren untersucht wurden. Es zeigt sich nun, daß nicht weniger als 81 von 96 Seren 24 Stunden nach der Blutentnahme, nur 13 48 Stunden und 1 72 Stunden nach derselben untersucht wurden. Nur bei einem Serum fehlt die Zeitangabe. Es war uns etwas auffällig, weshalb Hammer auf diese Zeitangabe so viel Gewicht legt, und wir stellten daher einige Versuche an, um festzustellen, ob die Ursache zu unseren stark abweichenden Resultaten am Alter der Seren liegen könne, da die früher von uns benutzten Seren ca. 3 Wochen mit Zusatz von Karbolwasser im Eisschrank gestanden hatten. Wir untersuchten 9 Seren von schwach tuberkulösen Kühen (Gruppe I und IIa, s. unten) einige Stunden nach der Blutentnahme. Obschon wir die geringste Menge Komplement anwendeten, welche in der Antigenkontrolle Hämolyse ergeben konnte, banden nur 4, während bei unserem Antigen 7 banden. Es scheint also bei der Hammerschen Technik von Bedeutung zu sein, frisches Serum anzuwenden; auch bei Anwendung von frischem Serum ist es uns aber nicht gelungen, annäherungsweise so gute Resultate zu erzielen wie Hammer.

Selbst haben wir Seren von 482 Kühen untersucht. 160 davon rührten von nicht-tuberkulösen Kühen her. Von letzteren rührten 84 von Schlachttieren her, die im Kopenhagener Schlachthaus geschlachtet, daselbst von uns untersucht und tuberkulosefrei befunden worden waren. Sie waren sämtlich vor der Schlachtung einer Tuberkulinprobe (intrakutan) unterworfen, die meisten gleichzeitig einer intrakutanen Probe mit Geflügeltuberkulin.

Von den 84 ergaben 11 Komplementbindung; von diesen 11 hatten aber 5 entweder bei gewöhnlicher Tuberkulinprobe oder bei der Geflügeltuberkulinprobe typisch reagiert. Wir glauben uns somit berechtigt, diese 5 außer acht zu lassen, da es als überwiegend wahrscheinlich zu betrachten ist, daß sie entweder von Tuberkulose oder von paratuberkulöser Enteritis angegriffen waren.

76 von den Seren rührten aus einem tuberkulosefreien Bestande her. Davon banden 2.

Im ganzen banden von 160 Seren von annehmbar gesunden Tieren 13 (davon werden der Tuberkulinreaktion wegen 5 ausgeschieden), d. h. ca. 5 Proz.

Wir untersuchten ca. 300 Seren von tuberkulösen Kühen; die meisten davon rührten von Schlachttieren, einige von Patienten der tierärztlichen

Hochschule her; die Tiere wurden mit wenigen Ausnahmen alle nach der Schlachtung von einem von uns untersucht.

Wir haben diese Kühe nach dem Grad und Sitz der Tuberkulose in 3 Hauptgruppen geteilt.

Gruppe I umfaßt Tiere mit Lymphdrüsentuberkulose; bei den meisten handelte es sich um unbedeutende Prozesse in einer oder mehreren der Drüsen der Lunge, bei einigen um Tuberkulose der retropharyngealen oder submaxillaren Drüsen. Diese Gruppe enthält 28 Tiere. Davon ergaben nur 2 vollständige Bindung, 2 zweifelhafte Komplementbindung. Rechnen wir die zweifelhaften zu den positiven, so haben wir ca. 14 Proz. mit positiver Komplementbindung.

Gruppe II umfaßt Tiere mit Tuberkulose in den Lungen und deren Drüsen, sowie eventuell in den retropharyngealen und submaxillaren Drüsen.

Nach dem Grad der Tuberkulose zerfiel diese Gruppe in 2 Klassen.

A. Geringe Tuberkulose der Lungen (vereinzelte erbsengroße Prozesse bis einen einzelnen walnußgroßen Prozeß). Diese Klasse enthält 42 Tiere. 20 ergaben Komplementbindung, 22 Hämolyse, also ca. 48 Proz. Bindung.

B. Ausgebreitetere Tuberkulose der Lungen. Diese Klasse enthält 66 Tiere. 88 Proz. ergaben Komplementbindung.

Gruppe III umfaßt Tiere mit Tuberkulose in zwei oder mehr Organen oder in den Drüsen dieser Organe. Zu dieser Gruppe gehören Tiere mit Pleura- und Peritonealtuberkulose, Tuberkulose in den Lungen und in einer einzelnen Fleischdrüse. Die meisten dieser Tiere waren übrigens wohlgenährt und anscheinend gesund, aber die Gruppe umfaßt außerdem selbstredend mehrere stark tuberkulöse Tiere. Die Gruppe enthält 119 Tiere; 115 ergaben Komplementbindung, 4 hämolysierten, im ganzen ergaben ca. 97 Proz. positive Reaktion.

Von den 4 Rindern, deren Seren hämolysierten, hatte:

1 (Kalb) nur alte verkalkte Tuberkulose in den Bronchial- und Portaldrüsen,
2 Tuberkulose in Lungen und Portaldrüsen,
1 Serosatuberkulose der Pleura und des Peritoneums, dagegen keine Tuberkulose in den Organen.

Aus den Zahlen der 3 Gruppen wird unmittelbar erhellen, daß die Methode ein gewisses klinisches Interesse hat, indem fehlende Komplementbindung dafür reden wird, daß das Tier entweder ganz gesund oder nur in geringem Grade von Tuberkulose angegriffen ist. Ferner sieht man leicht, daß die Komplementbindungsmethode dort ihre Stärke hat, wo die Tuberkulinprobe sich weniger zuverlässig zeigt, nämlich bei der Untersuchung stark tuberkulöser Tiere.

Ferner hat die Methode den Vorteil, daß man das Verfahren so oft, wie man will, wiederholen kann. Die Tuberkulineinspritzung wird, insofern sie überhaupt einen Einfluß hat, in der Regel bewirken, daß Seren von schwach tuberkulösen Tieren binden.

Der Fehlerprozentsatz bei gesunden Tieren war in unserem Material recht gering; möglicherweise ist er in der Tat noch geringer, indem die Bindung davon herrühren mag, daß die Tiere von chronischer Enteritis angegriffen waren, indem Tiere mit diesem Leiden bei Komplementbindung in derselben Weise reagieren werden wie tuberkulöse Tiere. Andererseits muß zugegeben werden, daß es ein wesentlicher Fehler der Methode ist, daß es tatsächlich unmöglich ist, zu sagen, ob eine Komplementbindung auf dem einen oder dem anderen Leiden beruht. Wie viel Fehldiagnosen wegen chronischer Enteritis zu bedeuten haben, wird wesentlich von Vorkommen und Verbreitung dieser Krankheit in dem untersuchten Bestande abhängen.

Um zu untersuchen, welche Resultate die Komplementbindung in praxi ergeben würde, untersuchten wir zwei Bestände, von denen wir wußten, daß die Tuberkulose in denselben Verluste verursacht hatte. Der eine bestand aus 34 Tieren, der andere aus 20. In beiden reagierten 40 Proz. bei der Komplementbindungsprobe. Die Tiere des ersteren

Bestandes wurden später der Tuberkulinprobe unterzogen mit dem Ergebnis, daß alle 34 reagierten.

Bei allen Untersuchungen arbeiteten wir mit einem Ueberschuß an Komplement von ca. 30—40 Proz. über das Titer samt einem starken Hämolysin, in der Regel 6—8mal das Titer. Die zur endgültigen Beurteilung benutzte Ablesung fand ca. 12 Stunden nach der Aufnahme aus dem Wasserbad statt, was eine recht strenge Probe ist, da verschiedene schwache Bindungen nicht so lange halten. Nur vollständige und sehr starke Bindungen wurden als positiv betrachtet.

Wir haben nun untersucht, wie sich die Verhältnisse stellen würden, wenn wir die Komplementmenge verminderten, indem wir nur einen geringen Ueberschuß an Komplement zusetzten, in der Regel ca. 10 Proz. mehr als die zur vollständigen Hämolyse der Antigenkontrolle notwendige Menge. Es folgt von selbst, daß man, wenn man mit einem so geringen Komplementüberschuß arbeitet, notwendigerweise Serumkontrollen haben muß, um sicher zu sein, daß die verschiedenen Seren nicht selbst imstande sind, zu binden, und daß man gleichfalls normale Rinderseren als Kontrollen haben muß. Wir verlangten stets, daß die Serumkontrollen, selbst wenn das Serum in doppelter Menge 0,2 ccm zugesetzt wird, nicht die geringste Hemmung der Hämolyse aufweisen durften, Zudem arbeiteten wir in der Regel mit einer niedrigeren Hämolysinmenge von 3—4mal das Titer.

In der Weise untersuchten wir 35 Seren von Schlachttieren — 23 waren bei der Schlachtung gesund. Davon banden 4; 2 davon hatten jedoch bei der Tuberkulinprobe nach der Blutentnahme typisch reagiert. Der Fehlerprozentsatz, 9,5 Proz., scheint also größer zu sein, als wenn man mit größerem Komplementüberschuß arbeitet.

12 hatten lokale Lymphdrüsentuberkulose. 9 banden vollständig, 2 nur teilweise, 1 hämolysierte. Wenn man auch nur die 9 als positiv betrachtet, sind es doch 75 Proz., während wir bei Zusatz von einer größeren Menge Komplement in dieser Gruppe nur ca. 14 Proz. positive Reaktionen erhielten.

Von 32 Seren, die von Kühen herrührten, die in einem tuberkulösen Bestande tuberkulinreagiert hatten, gaben 40 Proz. positive Reaktion, wenn reichlicher Komplementüberschuß zugesetzt wurde, 93 Proz. bei Zusatz von geringem Komplementüberschuß. Wie man sieht, kann man in der Weise den Resultaten der Tuberkulinprobe nahe kommen.

Wir haben mehrere vergleichende Versuche mit verschiedenen Antigenen angestellt. Dabei arbeiteten wir mit 30—40 Proz. Komplementüberschuß. Die von uns verglichenen Antigene waren 2 Stämme von spontaner Papageientuberkulose — beide sicherlich humanen Ursprungs — eine Menschentuberkulose, ein Geflügel-, ein Rindertuberkulosestamm, ferner Tuberkulin, wässeriger Extrakt von Tb, Alkohol und Aetherextrakt von Tuberkelbacillen. Diese Extrakte waren von Assistent Gjaldbæk für uns hergestellt.

Die Tuberkelantigene stellten wir in folgender Weise her. Wir bereiteten eine Standardemulsion — Bacillen von Bouillonkulturen, die durch Kochen abgetötet und mit Kochsalzlösung auf dem Filter ausgewaschen waren, wurden mit Filtrierpapier gründlich abgedrückt, dann wurden 3 g abgewogen und mit 1000 g Karbolkochsalzlösung emulgiert. Die Vergleichung geschah selbstredend in der Weise, daß die verschiedenen Seren gleichzeitig mit den verschiedenen Antigenen zur Probe

kamen, da man nur dann sicher sein kann, daß alle Verhältnisse, die Antigene ausgenommen, gleich sind.

Von diesen Antigenen waren die beiden Papageienstämme, der Menschen- und der Geflügelstamm sehr brauchbar; der Rinderstamm, das Tuberkulin und die übrigen Tuberkelbacillenextrakte waren mehr oder weniger unbrauchbar.

Die Papageienstämme und der Geflügelstamm waren ungefähr gleich emulgierbar und bildeten sehr haltbare Emulsionen, während der Menschenstamm nicht bei weitem eine so schöne Emulsion bildete, wie auch die Bacillen viel schneller zu Boden sanken. Die Eigenbindung der verschiedenen Bacillen schwankte bedeutend, am stärksten band der Geflügelstamm; er konnte nur in einer Menge von 0,1—0,2 ccm angewandt werden; die übrigen Stämme wurden in einer Menge von 0,2 bis 0,3 ccm angewandt; der eine Papageienstamm (Pap. 1) jedoch in einer Menge von 0,5 ccm, indem seine Eigenbindung bedeutend geringer war als die der übrigen Stämme.

Gewöhnlich werden die Antigene, auch in den doppelten Mengen angewendet, keine nennenswerte Eigenbindung haben; dies ist aber, wie früher erwähnt, in hohem Grade von dem angewandten Meerschweinchenserum abhängig.

Gegenüber Seren von stark tuberkulösen Tieren ergaben die genannten Stämme alle vollständige Bindung bei Serumdosen von 0,1 bis 0,05 ccm. Gegenüber schwächer bindenden Seren war der eine Papageienstamm (Pap. 2) überlegen; in einer Menge von 0,5 ccm gab jedoch Pap. 1 wenigstens ebenso gute Resultate.

Uebrigens gab der Papageienstamm nicht gegenüber allen schwächeren Seren die besten Resultate; ab und zu trafen wir auf ein Serum von einem tuberkulösen Tier, das mit einem der anderen Antigene bedeutend bessere Bindung ergab.

Nur eins der Bacillenantigene war unbrauchbar; es war merkwürdigerweise die Rinderbacillenemulsion, die ja gegenüber Rinderseren am spezifischsten sein sollte. Die Ursache dazu, daß dies Antigen so schlechte Resultate ergab, lag sicherlich in rein physikalischen Verhältnissen, indem die Bacillen sehr wenig emulgierbar waren und sehr schnell zu Boden sanken. Noch schlechtere Resultate ergab das Tuberkulin; dies wurde in einer Stärke von 0,1 ccm konzentriertem Tuberkulin angewendet. Von 42 Seren, die alle mit Pap. 2 banden, ergaben nur 3, d. h. ca. 7 Proz., Komplementbindung mit Tuberkulin. Die Ursache dazu, daß unsere Resultate mit Tuberkulin bedeutend schlechter sind als die anderer Forscher, läßt sich schwerlich ermitteln; nur so viel kann man sagen, daß das Tuberkulin kaum daran schuld ist, indem Untersuchungen von Ellermann und Erlandsen durch Kutanreaktionen an tuberkulösen Menschen dargetan haben, daß unser Tuberkulin bedeutend größere Mengen spezifischer Stoffe enthält als das deutsche Tuberkulin. Vielleicht beruht es wesentlich darauf, daß wir verlangten, daß eine Bindung, um als positiv bezeichnet zu werden, auch imstande sei, zu halten.

Von den übrigen Tuberkelbacillenextrakten erwies der Alkoholextrakt sich als der beste, indem er ab und zu bei Aufnahme der Gläser aus den Wasserbädern sehr bedeutende Bindung aufwies; sie war aber nicht stark genug, um bis auf den nächsten Tag halten zu können. Uebrigens besaßen die verschiedenen Extrakte eine sehr bedeutende Eigenbindung, weit mehr als die angewandten Bacillenemulsionen.

Endlich haben wir eine Reihe von Untersuchungen angestellt über das Vorkommen der Antistoffe in der Milch von Tieren, die an Euter-

tuberkulose litten. Wir untersuchten im ganzen 89 Milchproben, die ans Laboratorium eingesandt worden waren, weil die Tiere eutertuberkuloseverdächtig waren. In 51 dieser Proben wurden Tuberkelbacillen nachgewiesen und 47 davon ergaben auch Komplementbindung, indem sie in Dosen von 0,1 und 0,05 ccm Milch vollständige Hemmung der Hämolyse ergaben, während 4 die Hämolyse nicht hemmten. In den 38 anderen Milchproben wurden dagegen verschiedene Bakterien, aber keine Tuberkelbacillen nachgewiesen; 31 davon ergaben vollständige Hämolyse, 5 banden und 2 wiesen zweifelhafte Komplementbindung auf. Was die Beurteilung dieses Resultats betrifft, muß bemerkt werden, daß es nicht ganz ausgeschlossen ist, daß einzelne von diesen Kühen Eutertuberkulose hatten, wenn bei der mikroskopischen Untersuchung auch keine Tuberkelbacillen nachgewiesen wurden. So zeigte es sich in einem einzelnen Fall, wo die Milchprobe band, bei späterer Einsendung, daß es sich tatsächlich um Eutertuberkulose handelte.

Es war ja a priori wahrscheinlich, daß Milch von stark tuberkulösen Tieren auch Komplementbindung ergeben würde, was sicherlich auch der Fall ist. Wir haben diese Frage noch nicht eingehender untersucht, aber doch gezeigt, daß die Milch von Kühen, deren Serum stark band, auch reichliche Mengen von Antistoffen enthielt, auch wenn sie durchaus kein Euterleiden hatten, indem wir in der Milch von 3 tuberkulosefreien Kühen, die in hohem Grade von chronischer Darmentzündung angegriffen waren, reichliche Mengen von Antistoffen nachwiesen.

Außer Seren von tuberkulösen Rindern hatten wir in 2 Fällen die Gelegenheit, Pferdeseren zu untersuchen. Das eine Serum rührte von einem dem klinischen Berichte nach sehr tuberkuloseverdächtigen Pferde her; das andere von einem Fall, dessen Diagnose durch die Einsendung einer exstirpierten Drüse aus der Kieferhöhle bestätigt worden ist. Beide Seren banden stark.

Wir haben ferner Seren von 10 Hühnern untersucht, die teils an spontaner, teils an experimenteller Tuberkulose litten. 9 davon ergaben mehr oder weniger vollständige Bindung, 1 hämolysierte. Von Seren von 17 gesunden Hühnern hämolysierten 16, während 1 band; dies Huhn gehörte zu einem stark tuberkulösen Bestand.

Was die chronische paratuberkulöse Enteritis bei Rindern betrifft, ein durch säurefeste Bacillen hervorgerufenes und ausschließlich auf den Darmkanal und die Mesenterialdrüsen beschränktes Leiden, sind wir die ersten, welche dargetan haben, daß dies Leiden sich mittels der Komplementbindung diagnostizieren läßt, indem wir vor über 2 Jahren gefunden haben, daß Seren von tuberkulosefreien Tieren, die von dem genannten Leiden stark angegriffen waren, mit Tuberkelbacillen als Antigen starke Komplementbindung ergaben. Wir gaben diese Untersuchung auf, weil wir irrtümlich glaubten, daß alle Tiere, denen neuerdings Geflügeltuberkulin injiziert worden sei, sich in der Weise verhalten würden. Da dem Bestande, aus dem die betreffenden Tiere (im ganzen 8) stammten, kurz darauf Geflügeltuberkulin injiziert wurde und den übrigen Jerseybeständen in Dänemark gleichfalls Geflügeltuberkulin injiziert worden war, meinten wir uns kein Material zur Fortsetzung unserer Untersuchung verschaffen zu können; die Komplementbindungsmethode läßt sich nämlich naturgemäß nur in absolut tuberkulosefreien Beständen als Diagnostikum der Enteritis anwenden, da Seren von tuberkulösen Tieren sich, wie früher erwähnt, in genau derselben Weise verhielten.

Vor ca. einem Jahre, als wir unsere Tuberkulosenuntersuchungen begannen, nahmen wir auch unsere Untersuchungen über die chronische

Darmentzündung wieder auf. Bei der Untersuchung von Seren von tuberkulosefreien Kühen, die mit Geflügeltuberkulin reagiert hatten und somit als an chronischer Enteritis leidend zu betrachten waren, fanden wir, daß ca. 60 Proz. reagierten. Die untersuchten Seren rührten von 2 Beständen her, in denen die Enteritis alljährlich bedeutende Verluste verursachte.

In der Literatur finden wir nur eine Mitteilung, und zwar von Twort[1]), über positive Versuche mit Komplementbindung bei Tieren, die durch das spezifische Mikrobion der Enteritis infiziert worden waren. Es ist Tworts großes Verdienst, in Verbindung mit Ingram diesen Bacillus reinkultiviert und eine Methode angegeben zu haben, indem er abgetötete, säurefeste Bacillen oder Extrakte davon zum Nährboden hinzusetzte, wodurch man ihn ohne Schwierigkeiten wachsen machen kann. Twort hat teils Agglutinationsversuche, teils Komplementbindungsversuche mit seinem Bacillus als Antigen angestellt. Außer künstlich infizierten Kaninchen und Geflügel, denen er den Bacillus ins Blut injiziert hatte, hat er einen Stier und eine Kuh untersucht, die spontan angegriffen waren, sowie 1 Kuh und 6 Kälber, die künstlich infiziert worden waren. Der Stier ergab bei den ersten Untersuchungen positive Reaktion, aber allmählich wie die Krankheit sich entwickelte, verlor das Serum das Vermögen, zu binden. Hier sind wir durchaus uneinig mit Twort, indem wir in allen unseren Fällen fanden, daß die Seren um so sicherer binden, je stärker die Tiere angegriffen sind, ein Verhältnis, das ganz dem von uns bei der Rindertuberkulose gefundenen Verhältnis entspricht. Von den übrigen Seren band das der künstlich infizierten Kuh; das Tier erwies sich aber bei der Sektion als auch von Tuberkulose angegriffen. Das Serum eines der infizierten Kälber wies eine schwache Bindung auf, die Seren der übrigen 6 Tiere keine Bindung. Tworts Resultate sind somit als weniger günstig zu bezeichnen; von 7 Seren (die tuberkulöse Kuh wird ausgeschaltet) ergab nur eins eine vollständige Bindung, und zwar nicht einmal in allen Versuchen.

Wir haben im ganzen Seren von ca. 800 Kühen aus 7 tuberkulosefreien Beständen untersucht, in denen chronische Darmentzündung vorkam. In diesen Beständen war es im voraus versucht worden, die chronische Enteritis durch Isolation der auf Geflügeltuberkulin reagierenden Tiere zu bekämpfen. Diese Probe bot uns also eine Kontrolle für unsere Resultate dar.

Wie früher erwähnt, zeigte es sich, daß ca. 40 Proz. der Seren der bei der gewöhnlichen Tuberkulinprobe reagierenden (also tuberkulösen) Kühe banden. Man könnte also erwarten, eine ähnliche Anzahl bindender Seren von Kühen zu finden, die auf Geflügeltuberkulin reagiert hätten, wenn man mit reichlichem Ueberschuß an Komplement arbeitete. Dies war auch der Fall; in den reagierenden Abteilungen banden 36,8 bis 55,6 Proz. der Seren von untersuchten Kühen.

Nicht ganz so günstig waren die Verhältnisse in den Abteilungen, welche die Geflügeltuberkulinprobe bestanden hatten und also gesund sein sollten, indem 9,5—13 Proz. reagierten. Durchaus überraschend war dies Resultat nicht, indem es sich im Laufe der letzten Jahre mehrmals gezeigt hatte, daß in gesunden Beständen einzelne Fälle von chronischer Enteritis vorfielen, wie es auch nach mehrjähriger Arbeit, und obschon die Isolation zwischen gesunden und reagierenden Tieren an

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66.

mehreren Orten völlig befriedigend war, nicht gelungen ist, zu verhindern, daß bei der nächsten Probe eine gewisse Anzahl gesunder Kühe, bisweilen gar bis 10 Proz., reagierten.

Selbstverständlich ist es schwer, einen exakten Beweis dafür aufzubringen, daß die Kühe dieser Bestände, welche eine Komplementbindungsreaktion abgeben, tatsächlich von Darmentzündung angegriffen sind, indem es viel zu kostspielig sein wird, eine größere Anzahl dieser anscheinend ganz gesunden Kühe zu schlachten. 7 von den Kühen, die auf die Komplementbindungsprobe reagiert hatten, wovon jedenfalls 4 nicht auf die Geflügeltuberkulinprobe reagierten, sind jedoch bereits klinisch angegriffen und geschlachtet worden; wir haben davon Gedärme erhalten und festgestellt, daß sie tatsächlich von chronischer Enteritis angegriffen waren.

Wir verfügen im ganzen über 20 Sektionen, nämlich 19 Kühe und 1 Ziege. Mit Ausnahme der 7 oben erwähnten Kühe und der Ziege handelt es sich um Tiere, die bei der Untersuchung klinisch angegriffen waren, die meisten sogar in sehr hohem Grade. Sie banden alle stark, d. h. bei Serummengen von 0,01 ccm. Die klinisch angegriffenen Tiere reagierten also positiv in 100 Proz. der Fälle.

Die Ziege gehörte zu einer Schar Ziegen des Versuchslaboratoriums; wir wollten sie zu einigen Tuberkuloseexperimenten benutzen und somit feststellen, daß ihr Serum nicht im voraus band. Es überraschte uns nun sehr, daß dies in sehr hohem Grade der Fall war, da unter unseren Ziegen nie Tuberkulose vorgekommen war. Einige Monate darauf löste sich das Rätsel, als wir die Ziege schlachteten; diese war in der späteren Zeit gewaltig abgemagert, ohne doch an Diarrhöe zu leiden; die Sektion ergab, daß sie in hohem Grade von chronischer Darmentzündung angegriffen war.

Schließlich haben wir vergleichende Versuche über die Brauchbarkeit verschiedener Antigene gegenüber der Enteritis angestellt. Die von uns verglichenen Antigene waren unser gewöhnliches Antigen (Emulsion des Papageienstammes II), Tworts Bacillus (der spezifische Bacillus der Enteritis) und ein Geflügelstamm. 25 Seren von Kühen, die auf die Geflügeltuberkulinprobe reagiert hatten, wurden untersucht.

Mit Pap. II als Antigen banden 52 Proz.,
mit Tworts Bacillus als Antigen banden 28 Proz.,
mit dem Geflügelstamm als Antigen banden 24 Proz.

Das Resultat des Vergleichs war also zugunsten unseres gewöhnlichen Antigens.

Wir hoffen, daß es mittels der Komplementbindungsmethode in Verbindung mit Geflügeltuberkulin möglich sein wird, die chronische Enteritis zu bekämpfen oder wenigstens in tuberkulosefreien Beständen den recht bedeutenden Verlust zu vermindern, den dies Leiden anrichtet.

Wir haben mehrere Versuche angestellt, um die Wirkung der Tuberkulininjektionen auf die Antistoffbildung teils bei normalen, teils bei tuberkulösen Tieren zu untersuchen.

Malleininjektionen an gesunden Pferden verursachen, wie bekannt[1]), die Bildung komplementbindender Antistoffe in reichlicher Menge; es war somit a priori nicht unwahrscheinlich, daß sich bei Tuberkulininjektionen ein ähnliches Verhältnis geltend machen würde. Die Literatur

1) Miessner u. Trapp, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52.

zeigt, daß mehrere Forscher, u. a. Bertarelli und Datta[1]), zu dem Resultat gekommen sind, daß man durch die Behandlung gesunder Kaninchen und Hunde mit Tuberkulin eine Bildung von komplementbindenden Antistoffen erzeugen kann. Sata[2]) meint gleichfalls, bei Pferden und Ziegen, die intravenös mit Tuberkulin geimpft waren, solche Antistoffe nachweisen zu können.

Es ließe sich vielleicht gegen diese Versuche einwenden, daß die genannten Forscher Tuberkulin als Antigen anwendeten, und daß die Komplementbindung vielleicht von nicht-spezifischen Stoffen des Tuberkulins herrühren könnte.

Von gesunden Tieren spritzten wir 2 Pferde subkutan, das eine mit 50 cg, das andere mit 3 g konzentriertem Tuberkulin, in Karbolwasser gelöst. Es gelang weder mit unserem gewöhnlichen Bacillenantigen, noch mit Tuberkulin, Antistoffe nachzuweisen.

An 2 gesunden Kaninchen unternahmen wir intravenöse Injektionen von 5 ccm verdünntem Tuberkulin (1—5), das zuvor $^1/_2$ Stunde zentrifugiert worden war, um die Möglichkeit auszuschließen, daß es Tuberkelbacillen enthalten könnte. Die Kaninchen wurden mit 8 Tagen Zwischenraum im ganzen 3mal intravenös gespritzt, jedesmal mit der angeführten Dosis. Die Serumproben wurden, nachdem Karbolwasser zugesetzt worden war, in den Eisschrank gestellt. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle verzeichnet, wo die Zahlen den Grad der Hämolyse bezeichnen.

	Kaninchen 273	Kaninchen 274
Blutprobe 20. Mai 1912	H. 110	H. 100
20. Mai intravenös mit 5 ccm verdünntem Tuberkulin geimpft		
Blutprobe 28. Mai	„ 0	„ 50
28. Mai intravenös mit 5 ccm verdünntem Tuberkulin geimpft		
Blutprobe 4. Juni	„ 0	„ 100
„ 7. „	„ 0	„ 100
7. Juni intravenös mit 5 ccm verdünntem Tuberkulin geimpft		
Blutprobe 7. Juni	„ 50	„ 100
„ 24. „	„ 100	„ 100
„ 1. Juli	„ 100	„ 100
„ 10. „	„ 100	„ 100
„ 11. August	„ 100	„ 100

Ein paar Kaninchen, die wir zu sensibilisieren versuchten, indem wir sie mit 5 ccm Pferdeserum, das sehr reich an Antistoffen war, intravenös impften, ergaben ähnliche Resultate wie Kaninchen 274. Die Titrierungen wurden mit unserem gewöhnlichen Antigen (Tuberkelbacillenemulsion) ausgeführt. Diese Versuche scheinen darauf zu deuten, daß sich bei einzelnen Kaninchen infolge intravenöser Injektion von Tuberkulin vorübergehend bedeutende Antistoffe bilden können.

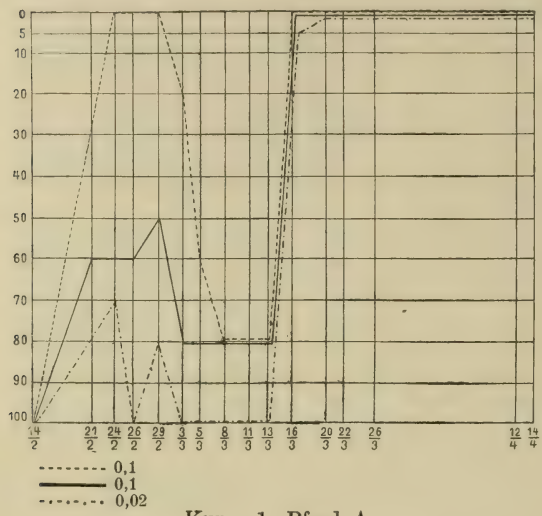
An einem Pferde, das durch Injektion von abgetöteten Tuberkelbacillen (s. Kurve 1) für Tuberkulin sensibilisiert worden war, stellten wir noch Versuche über die Wirkungen der Tuberkulininjektion auf den Antistoffgehalt des Blutes an. Es wurden mit gewissen Zwischenräumen Blutproben entnommen; die Serumproben wurden in derselben Weise aufbewahrt, wie die oben erwähnten Kaninchenseren.

Das Pferd wurde am 14. Febr. am Halse subkutan mit 15 cg Tuberkelbacillen (Pap. II) geimpft. Wie aus der Kurve (Strich -----)

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58.
2) Zeitschr. f. Tuberkul. Bd. 18.

erhellt, hatte die Antistoffbildung nach 10 Tagen das Maximum erreicht; es hielt sich nur einige Tage und fiel dann. Titrierung wurde mit 0,1 ccm Serum ausgeführt.

Am 11. März wurde das Pferd mit 5 ccm Tuberkulinlösung (1—9) subkutan geimpft und reagierte typisch. Temperatur vor der Impfung 37,8; 9, 11, 13, 15, 17 Stunden später bzw. 40,7, 41, 40,5, 40,5, 40,5.



Kurve 1, Pferd A.

Wie man aus der Kurve (Strich - - - - -) ersieht, band das Serum des Pferdes vollständig bereits nach 5 Tagen.

Um zu untersuchen, ob die Tuberkulininjektion den Antistoffgehalt des Blutes nur bis zu der Höhe gesteigert hatte, den er vom 24.—29. Febr. betrug, oder ob sie ein noch höheres Steigen verursacht hatte, titrierten wir die aufbewahrten Serumproben in Dosen von 0,1 und 0,02 ccm mit bedeutendem Ueberschuß an Komplement (ca. 70 Proz. über das Titer) und einem starken Hämolysin, indem man auf diese Weise leicht bewirken kann, daß Seren mit geringeren Antistoffen in höherem oder geringerem Grad hämolysieren, da sie keine so großen Mengen Komplement binden können wie Seren mit reichlicher Menge von Antistoffen.

Wie aus der Kurve (Strich ——— und Strich ·····) erhellt, hatte die Tuberkulininjektion eine viel bedeutendere Zunahme der Antistoffe bewirkt, als die Bacillen es in der ersten Periode vermocht hatten.

Von praktischem Interesse würde es sein, die Wirkung der Tuberkulininjektion auf spontan tuberkulöse Kühe zu untersuchen.

Wir entnahmen daher unmittelbar vor einer Tuberkulinprobe und 14 Tage darauf 31 Kühen, die übrigens alle auf die Probe reagierten, Blut. Der Vergleich fand in der Weise statt, daß die Serumproben der Kühe von vor und nach der Injektion gleichzeitig titriert wurden, so daß die Verhältnisse ganz gleich waren. In 9 Fällen wurde eine mehr oder weniger deutliche Zunahme des Antistoffgehalts nachgewiesen.

	Vor der Injektion				Nach der Injektion			
Serumdosis	0,1	0,5	0,01	0,005	0,1	0,05	0,01	0,005
1.	0	20	80	100	0	0	50	100
2.	30	50	80	100	0	0	30	80
3.	20	50	90	100	0	5	70	80
4.	20	30	80	90	0	0	50	80
5.	50	50	80	90	0	0	50	70
6.	40	50	80	90	5	30	60	80
7.	90	90	100	100	5	5	70	70
8.	0	0	50	50	0	0	10	10
9.	5	5	50	50	0	0	10	30

Einzelne banden bei allen genannten Dosen sowohl vor als nach der Injektion. Ein einzelnes Serum band merkbar besser vor der In-

jektion. Die meisten Seren wiesen entweder gar keine oder nur eine ganz unbedeutende Veränderung auf.

	Vor der Injektion				Nach der Injektion			
Serumdosis	0,1	0,5	0,01	0,005	0,1	0,05	0,01	0,005
10.	0	0	20	50	20	20	20	50
11.	0	0	0	0	0	0	0	0
12.	50	50	80	90	50	50	80	90
13.	10	50	100	100	5	50	100	100
14.	0	0	80	90	0	0	80	90
15.	80	80	90	90	50	80	90	90
16.	0	0	40	70	0	0	40	70
17.	0	5	80	90	0	0	50	70
18.	50	80	90	90	30	50	90	90
19.	0	0	5	5	0	0	5	50
20.	0	0	5	20	0	0	5	20
21.	0	0	0	0	0	0	0	0
22.	0	0	0	50	0	0	0	0
23.	0	0	0	0	0	0	0	0
24.	0	0	10	50	0	5	50	50
25.	0	0	20	50	0	0	20	50
26.	0	0	5	10	0	0	10	10
27.	90	90	100	100	90	90	100	100
28.	0	0	50	50	0	0	50	50
29.	0	0	50	50	0	5	50	50
30.	0	0	10	50	5	5	10	50
31.	0	0	5	5	0	0	5	5

Eine einzelne Tuberkulinprobe scheint also in den meisten Fällen überhaupt keinen Einfluß auf die Menge der Antistoffe im Blute tuberkulöser Tiere zu haben; in einer gewissen Anzahl von Fällen bewirkt sie doch eine merkbare Vermehrung derselben.

Aus der Kurve 1 geht außerordentlich deutlich hervor, daß Injektion von abgetöteten Tuberkelbacillen eine Bildung von bedeutenden Mengen von komplementbindenden Antistoffen bei gesunden Tieren bewirkt, wie diese auch gegenüber Tuberkulin sensibilisiert werden.

Dies Verhältnis ist nun von Interesse, indem Löwenstein in der im Erscheinen begriffenen Ausgabe von Kolle und Wassermanns Handbuch noch immer behauptet, daß man im tuberkulösen Organismus, welcherlei Tuberkelbacillenantigene man auch injiziert, nur Agglutinine, Präzipitine, Bakteriotropine hervorzurufen vermag. Löwenstein faßt diese Antistoffe zusammen unter der Bezeichnung Reagine, indem er meint, daß diese Stoffe keinen Einfluß auf die Immunität ausüben. Die Gruppe von echten Antistoffen umfaßt nach Löwenstein nur komplementbindende Antistoffe und Antikutine, welche letztere mit Tuberkulin vermischt imstande sein sollten, letzteres zu neutralisieren, so daß dessen spezifische Wirkung bei der Kutanreaktion bei tuberkulösen Individuen verschwindet. Antistoffe mit einer dieser Funktionen lassen sich nur dort erzeugen, wo längere Zeit hindurch eine Infektion mit lebenden Tuberkelbacillen bestanden hat. Wie aus unseren Untersuchungen hervorgeht, dürfte es das tatsächliche Verhältnis sein, daß man mittels eines beliebigen Tuberkelbacillenantigens oder vielleicht gar mittels eines beliebigen Antigens aus abgetöteten säurefesten Bacillen eine Bildung von Antistoffen bewirken kann, die mit Tuberkelbacillen als Antigen imstande sind, Komplement zu binden.

Uebrigens sind bereits andere Forscher zu ähnlichen Resultaten ge-

kommen; so hat Sata[1]) gezeigt, daß man durch intravenöse Verimpfung abgetöteter Tb. an Pferden, Kühen, Ziegen, ja gar mit Tuberkulin Antistoffbildung hervorrufen und gegen Tuberkulin sensibilisieren kann, und Wolf-Eisner[2]) hat dargetan, daß man durch Injektion zerquetschter Tuberkelbacillen Tiere gegen Tuberkulin sensibilisieren kann.

Wir begannen unsere Untersuchungen mit abgetöteten Tuberkelbacillen, ohne jene Untersuchungen zu kennen. Unseren Ausgangspunkt bildeten die Verhältnisse beim Rotz des Pferdes, und wir suchten bei unseren Tuberkuloseuntersuchungen stets Gegenstücke zu den Verhältnissen zu finden, die uns vom Rotz bekannt waren; wir wußten, daß Pferde, die mit abgetöteten Rotzbacillen geimpft waren, sich, was die Antistoffbildung betrifft, wie Pferde mit spontanem Rotz verhalten, und betrachteten es daher als wahrscheinlich, daß Pferde, die mit abgetöteten Tuberkelbacillen geimpft worden sind, sich in ähnlicher Weise verhalten würden, was unsere Untersuchungen auch in vollem Maße bestätigt haben.

Sicherheitshalber wollten wir unseren Versuch mit Verimpfung abgetöteter Tuberkelbacillen an größeren Tieren wiederholen. Wir impften also am 16. Juni 1912 3 Pferde und 1 Kuh subkutan mit 15 cg abgetöteten Tuberkelbacillen; die Kuh und das Pferd I[3]) wurden subkutan mit Geflügelbacillen, Pferd II und III mit Bacillen des einen Papageienstammes (also humanen Bacillen) geimpft. Bei der Blutentnahme und der Titrierung wurde verfahren wie bei den früheren Versuchen.

Wie aus den Kurven hervorgeht, erreichten alle Kurven nach 7 bis 13 Tagen ihr Maximum. Der Antistoffgehalt scheint im Laufe der Zeit nicht wenig zu schwanken, namentlich bei Pferd I und Pferd III. Diese Verhältnisse treten besonders hervor bei Betrachtung der Kurven der Serummenge 0,02 ccm.

Dem Pferd III wurde am 27. Sept. 0,5 ccm konzentriertes gewöhnliches Tuberkulin injiziert, was eine deutliche Fieberreaktion verursachte.

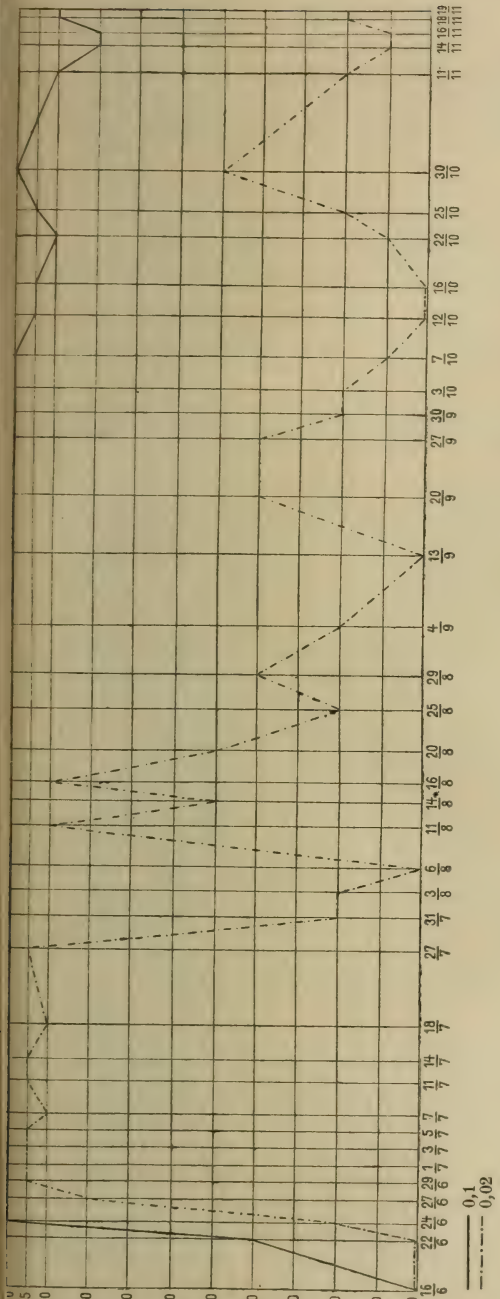
Vor der Injektion	9	11	13	15	17	19	Stunden später
27. Sept. 37,6	39,5	39,6	40	39,9	39,6	39,6	

Diese Tuberkulinreaktion bewirkte eine vorübergehende Zunahme des Antistoffgehalts, wie aus der Kurve zu ersehen ist. Das Pferd wurde darauf am 11. Nov. mit 16 mg Tb. geimpft. Die Kurve stieg wieder, und eine darauffolgende Tuberkulininjektion machte sie wiederum steigen; die Tuberkulininjektionen scheinen am besten zu wirken, wenn sie kurz nach der Impfung mit Tb. stattfinden.

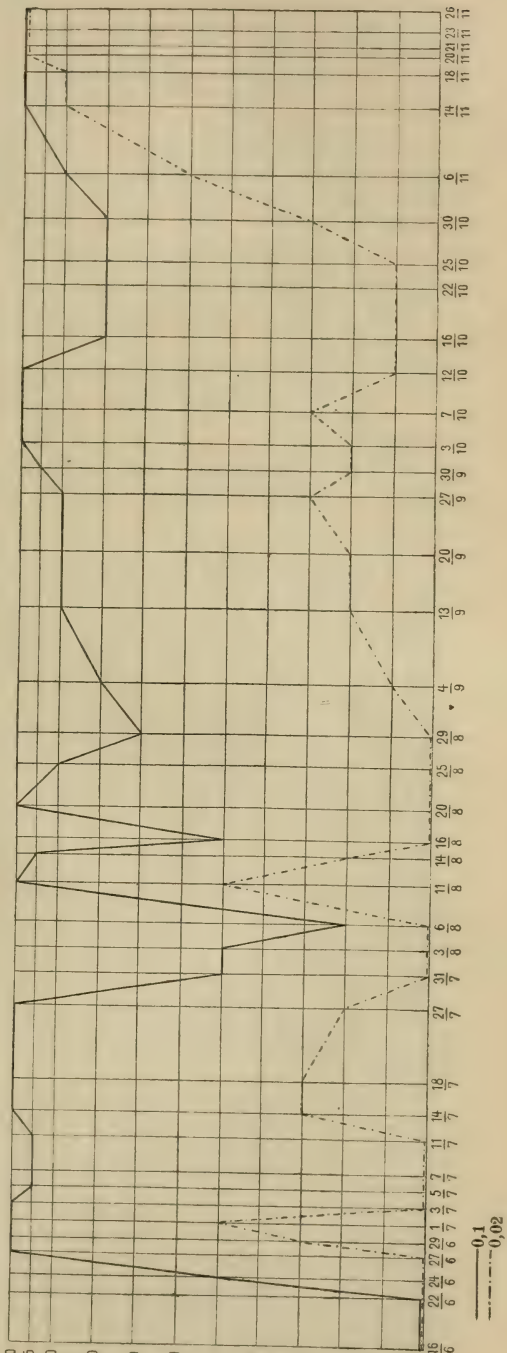
Ueberhaupt besitzt der tuberkulöse Organismus vielleicht gar kein größeres Vermögen, Antistoffe gegen Tuberkulin zu bilden, als der gesunde; die Zunahme der Antistoffmenge, die zuweilen eintritt, kann ja sehr wohl von der lokalen Reaktion herrühren, welche die Tuberkulinverimpfung in dem tuberkulösen Gewebe und um dasselbe veranlaßt.

Es wird angegeben, daß eine Tuberkulininjektion erst eine Abnahme und dann eine Zunahme des Antistoffgehalts bewirken wird. Um dies näher zu untersuchen, injizierten wir Pferd II intravenös am 18. Nov. 1912 $11^1/_2$ Uhr vorm. 5 ccm konz. Tuberkulin, in 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Wenig Minuten darauf erkrankte das Pferd

1) Zeitschr. f. Tuberk. Bd. 18.
2) Folia haematologica. Bd. 6, zitiert nach Sata.
3) Die Kurve der Kuh verhielt sich im wesentlichen wie die von Pferd II, die von Pferd I wie die von Pferd III.



Kurve 2, Pferd II.



Kurve 3, Pferd III.

heftig, wankte, aber fiel doch nicht; der Puls steigerte sich bis auf 100, die Respiration bis auf 80, die Temperatur fiel, um darauf schnell zu steigen.

Temp. $11^1/_2$ Uhr	$12^1/_2$	$1^1/_2$	$3^1/_2$	$5^1/_2$	$7^1/_2$	$9^1/_2$	12 Uhr nachts
38,8	36,9	39,2	40,7	41,3	40,7	40	38,6

Es entwickelte sich ein bedeutendes Lungenödem, und viele feine Röchellaute waren hörbar. Allmählich verbesserte sich der Zustand. Um $12^1/_2$ Uhr nachts hatte das Pferd die Krankheit anscheinend überwunden; es fraß und trank Wasser.

Am nächsten Morgen hatte das Pferd jedoch wieder Fieber, war ab und zu etwas unruhig, lag aber meistens ruhig da; die Temperatur wurde allmählich subnormal. Um 4 Uhr nachm. starb das Pferd.

Die Kurve zeigt, daß während dieser Zeit der Antistoffgehalt nicht abgenommen hat.

Es war dem Pferde nie früher Tuberkulin injiziert worden.

Die Sektion ergab nur Lungenödem. Der Versuch war also leider mißlungen.

Ein gleichzeitig mit derselben Dosis wie Pferd II intravenös geimpftes gesundes Pferd ward in keiner Beziehung affiziert.

Betrachten wir den Verlauf der Reaktion bei Pferd II, so müssen wir den Forschern recht geben, die meinen, daß sich durch den Einfluß des Tuberkulins auf den tuberkulösen Organismus ein toxischer Stoff bildet (W. Eber)[1]), und daß die Tuberkulinreaktion also als eine Art anaphylaktische Reaktion aufzufassen ist (Wolff-Eisner). Das Pferd wurde vor über 5 Monaten subkutan mit 15 cg abgetöteten Tuberkelbacillen geimpft und hat sich übrigens durch eine lokale Suppuration des größten Teils derselben entledigt. Es hat nun nur ein wenig Tuberkulose an der Impfstelle, sowie möglicherweise abgeheilte mikroskopische Prozesse in den inneren Organen; daß die schnelle und gewaltige Reaktion von der Einwirkung des Tuberkulins auf diese tuberkulösen Prozesse herrühren sollte, ist uns sehr unwahrscheinlich; dagegen wissen wir, daß das Serum des Pferdes reichliche Mengen von Antistoffen enthielt. Es liegt somit nahe, die Ursache der Tuberkulinreaktion in der Bildung eines durch die Wirkung des Tuberkulins auf die Antistoffe des Blutes entstandenen toxischen Stoffes zu suchen — ein derartiges Anaphylatoxin meinen Friedberger und Schütze übrigens hergestellt zu haben, indem sie Tuberkelbacillen, Komplement und Immunserum aufeinander wirken ließen.

Da wir durch unsere Versuche dargetan haben, daß komplementbindende Antistoffe mittels geeigneter Methoden in ca. 90 Proz. der Seren nur schwach tuberkulöser Rinder nachgewiesen werden können, erachten wir es für wahrscheinlich, daß sie tatsächlich bei allen Tuberkulosefällen in größerer oder kleinerer Menge vorhanden sind. Ist dies der Fall, kann man unserer Meinung nach ohne Zwang die Allgemeinreaktion als mittels eines durch die Wirkung des Tuberkulins auf die Antistoffe des Blutes gebildeten Stoffes verursacht betrachten, und die lokalen Reaktionen beruhen dann auf einer von diesem toxischen Stoff hervorgerufenen Entzündung.

Strikte weiß man natürlich nicht, ob die reaktionbewirkenden Antistoffe mit den komplementbindenden Antistoffen identisch sind, es ist

1) Deutsch. Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 21.

aber allenfalls möglich, daß ihr Vorkommen wenigstens beim Rind gleichmäßig ist.

Die Immunität gegen Tuberkulin, die durch eine einzelne oder durch wiederholte Tuberkulininjektionen hervorgerufen wird, sollte also unserer Meinung nach darauf beruhen, daß das Tier allmählich dem gebildeten toxischen Stoff gegenüber immun wird.

Es ließe sich natürlicherweise einwenden, daß das Tuberkulin selbst die Immunität erzeuge; wäre dies der Fall, so müßte man bei immunisierten Tieren einen hohen Antistoffgehalt vorfinden, was aber nicht zutrifft.

19 Kühe, die alle früher auf Geflügeltuberkulin reagiert hatten, die aber allmählich, nachdem ihnen zu wiederholten Malen Geflügeltuberkulin injiziert worden war, gar nicht mehr reagieren wollten, wurden mit der Komplementbindungsmethode untersucht. Nur bei 7 davon konnten wir Antistoffe nachweisen, indem wir mit reichlichem Komplementüberschuß arbeiteten, d. h. der Prozentsatz war nicht größer als bei Tieren, denen nie Tuberkulin injiziert worden war.

Auch die Verhältnisse bei außerordentlich stark tuberkulösen Tieren, verstehen sich am besten, wenn man die Bildung eines toxischen Stoffes bei der Tuberkulininjektion annimmt. Wie bekannt, reagieren stark tuberkulöse Tiere oft nicht oder nur in geringem Grade bei der Tuberkulinprobe, während man, falls die Theorie richtig wäre, erwarten könnte, eben bei ihnen eine besonders starke Reaktion bewirken zu können, da sich nach unseren Untersuchungen eben bei stark tuberkulösen Tieren reichliche Mengen von Antistoffen finden.

Zieht man in Betracht, daß sich bei solchen Tieren eine große Anzahl Bacillen finden, vielleicht sogar Bacillen im Blute zirkulieren, und daß sicherlich auch viele Bacillen zugrunde gehen, so wird es verständlich sein, daß unter solchen Verhältnissen die bestmöglichen Bedingungen einer Selbstimmunisierung vorhanden sind. So könnte die Immunität in diesen Fällen darauf beruhen, daß nach und nach ein Angewöhnen an die toxischen Stoffe eintritt.

Daß sich bei der Tuberkulininjektion tatsächlich bei stark tuberkulösen Tieren besonders reichliche Mengen von toxischen Stoffen bilden, wird dadurch befürwortet, daß man stark tuberkulöse Tiere verhältnismäßig leicht durch Verimpfung einer großen Dosis Tuberkulin töten kann (dies Verfahren wird bekanntlich bei der Untersuchung der Stärke des Tuberkulins an tuberkulösen Meerschweinchen benutzt).

Geringer Antistoffgehalt des Blutes sollte andererseits bedingen, daß die Reaktion bei der Tuberkulinprobe leicht wegfallen könnte. Auch dies paßt mit den tatsächlichen Verhältnissen überein, indem bei weitem die meisten Fehlschläge der Tuberkulinproben bei unbedeutenden verkäst-verkalkten tuberkulösen Prozessen vorkommen. Dies gilt sowohl von den thermischen als von den lokalen Tuberkulinproben.

Resumee.

Die Seren tuberkulöser Rinder enthalten komplementbindende Antistoffe. Deren Menge wird meistens vom Grad der Tuberkulose abhängig sein. Ein Nachweis von Antistoffen in reichlicher Menge wird somit eine diagnostische Bedeutung haben. Die Komplementbindung ist jedoch nicht spezifisch, indem sie nur besagt, daß die Tiere mit säurefesten Bacillen infiziert sind. So werden Kühe, die an paratuberkulöser

Darmentzündung (Johne's disease) leiden, sich bei der Komplementbindungsreaktion genau wie tuberkulöse Kühe verhalten.

Milch von Kühen, die an Eutertuberkulose leiden, wird gewöhnlich reichliche Mengen Antistoffe enthalten. Auch bei vorgeschrittenen Fällen von paratuberkulöser Enteritis, wo das Euter nie angegriffen ist, wird die Milch reichliche Mengen von Antistoffen enthalten; dies ist sicherlich auch der Fall bei stark tuberkulösen Kühen ohne Euterleiden.

Kaninchen bilden bei subkutaner Impfung mit abgetöteten oder mit avirulenten Tb. reichliche Mengen von Antistoffen, die sich sehr lange halten. Mit stark pathogenen Tb. infiziert, scheint es ihnen im Gegensatz zum Rinde oft schwer zu fallen, größere Mengen komplementbindender Antistoffe zu bilden; diese können sogar sehr bedeutend an Menge abnehmen oder vielleicht ganz verschwinden, wenn die Tiere stark tuberkulös werden.

Ein gutes Antigen geben leicht emulgierbare Tuberkelbacillen ab, während Tuberkulin nach unseren Untersuchungen ein schlechtes Antigen bildet.

Bei Pferden bilden sich bei subkutaner Impfung mit abgetöteten Tb. wie bei Kaninchen reichliche Mengen von Antistoffen im Blute.

Auch bei tuberkulösem Geflügel kann man mittels der Komplementbindungsmethode Antistoffe nachweisen.

Nachdruck verboten.

Chemotherapieversuche bei Kaninchencoccidiose[1]).

[Aus dem Institut für Hygiene der Kgl. Universität Siena, Vorst. Prof. A. Sclavo.]

Von **D. Ottolenghi** und **E. Pabis.**

Die Versuche, welche bisher mit der Chemotherapie bei Infektionskrankheiten und besonders bei protozoarischen Affektionen ausgeführt wurden, haben gezeigt, welche großartigen Resultate diese Therapie liefern kann; sie haben aber auch klargestellt, daß die Entwicklung der Chemotherapie in hohem Maße nicht nur von der Entdeckung neuer Heilmittel, sondern auch von einer reichlicheren und vielgestaltigeren Experimentierung der chemotherapeutischen Methoden abhängen wird.

Alle Fragen, welche sich auf die Posologie, die Vereinigung der Medikamente, die Abwechselung und die Dauer der Behandlung, die Erscheinungen der Idiosynkrasie usw. beziehen und zahlreiche weitere Fragen, welche infolge der besonders auf dem Gebiete der Spirillosen und Trypanosen ausgeführten Versuche aufgetreten sind, erwarten ihre Lösung gerade von den erwähnten Experimenten, welche uns die nötigen Anhaltspunkte über die optimalen Bedingungen für jede Behandlung liefern werden.

---

1) Nach einer Mitteilung an die K. Accademia dei Fisiocritici in Siena in der Sitzung vom 29. Nov. 1912.

Eine der vielen Fragen, welche verdient, eingehend und sorgfältig erforscht zu werden, bezieht sich auf die Protozoen; diese Parasiten haben in dem sie beherbergenden Tiere verschiedene Entwickelungsstadien, und es wäre höchst interessant, festzustellen, in welche Phase der Parasit am meisten chemotherapeutisch beeinflußbar ist, d. h. in welchem Stadium der Infektion die größten Chancen für eine erfolgreiche Behandlung vorliegen. Ein klassisches Beispiel dieser Art bietet bereits die menschliche Malaria dar; es ist aber sehr wahrscheinlich, daß man bei vielen anderen durch Protozoen erzeugten Krankheiten ähnliche Erscheinungen wird entdecken können.

Bei den Untersuchungen, von denen wir hier einen Teil beschreiben wollen, der sofort eine praktische Anwendung finden kann, sind wir gerade von dem erwähnten Standpunkt ausgegangen; wir bezweckten mit denselben die Ermittelung der chemotherapeutischen Agentien, die am meisten geeignet sind, die Coccidiose der Kaninchen in den verschiedenen Stadien der Evolution des Parasiten im infizierten Organismus zu bekämpfen.

Wie gesagt, wollen wir hier nur über einen Teil unserer Untersuchungen berichten, und zwar über diejenigen, die sich auf die Behandlung der Krankheit in ihren anfänglichen Stadien beziehen; wir haben uns aber vorgenommen, unsere Untersuchungen auch in bezug auf alle übrigen Phasen der Krankheit fortzusetzen.

Da die Coccidiose sehr leicht ganz junge Tiere befällt, haben wir uns bemüht, uns seit kurzem entwöhnte Kaninchen von mehr oder minder demselben Alter und demselben Gewicht zu verschaffen und, soweit die Möglichkeit dazu gegeben war, bei den einzelnen Gruppen von Versuchen Tiere aus einer und derselben Brut zu verwenden.

Es war durchaus nicht leicht, so viele Bedingungen zu erfüllen; aus diesem Grunde mußten wir uns auf wenige Gruppen von nicht zahlreichen Versuchen beschränken; andererseits haben wir aber den Vorteil, daß die Anwendung stets homogener Tiergruppen die besten Versuchsverhältnisse schafften, indem die Resultate der Versuche bei den einzelnen Tieren beachtbarer und die Vergleiche zwischen den behandelten Tieren und den Kontrollen ungleichsam sicherer wurden.

Die Kaninchen wurden, nachdem durch während mehrerer Tage wiederholte Untersuchung der Faeces festgestellt war, daß sie coccidiosefrei waren, mit aus kranken Tieren entnommenem Material infiziert, d. h. mit Faeces und mit Lebercysten, bei welchen, nach zur Sporenbildung genügender Zeit die mikroskopische Untersuchung gezeigt hatte, daß sie gekeimte Oocysten enthielten. Es sei hier daran erinnert, daß die Oocysten ihre völlige Entwickelung außerhalb des tierischen Organismus erreichen: Das Element teilt sich in vier Sporoblasten, die sich später mit einer wiederstandsfähigen Membran umhüllen und in ihrem Inneren zwei Sporozoiten erzeugen. Haben einmal die Sporen zusammen mit dem Futter den Verdauungskanal erreicht, so wird die Hülle, von welcher sie umgeben sind, durch den Pankreassaft verdaut und die freigewordenen beweglichen Sporozoiten wandern aus und infizieren den Organismus, und zwar besonders das Epithel des Dünndarmes und der Gallenwege und die Leber.

Da dieser Sporenbildungsprozeß zuweilen sehr langsam vor sich geht, haben wir es vorgezogen, uns reife Sporen durch das von Balbiani vorgeschlagene Verfahren zu verschaffen, welches es ermöglicht,

in 8—10 Tagen eine Sporulation zustande zu bringen, und darin besteht, daß man die Leber- oder Darmstücke oder die infizierten Faeces in einer wenige Millimeter hohen Wasserschicht bei 15—18° C. hält.

Das infizierende Material wurde dann in Wasser aufgeschwemmt und in einer Dosis von 5 ccm pro Kaninchen mittels einer Sonde in den Magen der Versuchstiere eingeführt.

Es wurde eine erste Reihe von Versuchen ausgeführt, um festzustellen, ob eine einzige subkutane Einspritzung von Arsenophenylglycin [1]) (0,10 in wässeriger Lösung), von Atoxyl (0,10 in wässeriger Lösung) oder von Natriumantymonyltartrat [2]) (0,01 g in wässeriger Lösung), ausgeführt direkt nach der Infektion, genügen konnte, um das Angehen der Krankheit hintanzuhalten.

Bei der zweiten Reihe handelt es sich um die wiederholte und kombinierte Behandlung. Zwei Kaninchen wurden unmittelbar nach der Infizierung 0,10 g Arsenophenylglycin subkutan eingespritzt; nach 6 Tagen wurde die Behandlung in der Weise fortgesetzt, daß ihnen 0,07—0,08 g Atoxyl in wässeriger Lösung injiziert und dann jeden dritten Tag einmal, und zwar 4mal im ganzen, Natriumantimonyltartrat (bis zur Maximaldosis von 0,0085 g) per os verabreicht wurde.

Bei 2 Kaninchen wurde die Behandlung 7 Tage nach der Infektion eingeleitet; es wurde ihnen 9mal mit einem Zwischenraum von je 2 Tagen 0,0045 g haltige Pillen von Auripimentum (3—5 Pillen pro Dose) verabreicht.

Tabelle I.

Einmalige Behandlung.

No.	Gewicht des Tieres g	Infektionstag	Behandlungstag	Behandlungsweise	Resultat
1	500	8. Juli 1912	8. Juni 1912	10 cg Arsenophenylglycin unter die Haut	Getötet am 6. Juli. Schwere Veränderungen der Leber, spärliche Läsionen des Darms.
2	520	dgl.	dgl.	1 cg Emeticum unter die Haut	Getötet am 6. Juli. Leichte Veränderungen der Leber und des Darms.
3	580	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
4	600	dgl.	dgl.	10 cg Atoxyl unter die Haut	Getötet am 6. Juli. Ziemlich schwere Veränderungen der Leber und des Darms.
5	550	dgl.	dgl.	dgl.	Stirbt am 12. Juni. Wahrscheinliche Todesursache: Atoxylvergiftung.
6 [3])	550	dgl.	—	—	Getötet am 6. Juli. Leber und Darm m. hochgradiger Coccidiose.

1) Es wurde eine Probemenge von Arsenophenylglycin angewendet, welche Exz. Prof. Ehrlich ungefähr vor 3 Jahren einem von uns (Ottolenghi) in freundlichster Weise zur Verfügung gestellt hatte und welche während der ganzen Zeit sorgfältig im Dunkel aufbewahrt wurde.

2) Hergestellt nach den Angaben von Plimmer. (Proceed. of the R. Soc. 1903 N. 536 B. p. 11.)

3) Kontrolle.

Weitere 2 Kaninchen bekamen drei subkutane Einspritzungen von 0,10 Arsenophenylglycin in wässeriger Lösung, mit Zwischenräumen von je 7 Tagen.

Tabelle II.

Wiederholte und kombinierte Behandlung.

No.	Gewicht des Tieres g	Infektionstag	Behandlung	Resultat
1	570	2. Juli 1912	2. Juli 1912: 10 cg Arsenophenylglycin unt. die Haut 8. Juli 1912: 7 cg Atoxyl unter die Haut 9. Juli 1912: 5 mg Emeticum per os 13. Juli 1912: 7 cg Atoxyl unter die Haut 14. Juli 1912: 6 mg Emeticum per os 18. Juli 1912: 8 cg Atoxyl unter die Haut 19. Juli 1912: 6,8 mg Emeticum per os 22. Juli 1912: 8,5 mg Emeticum per os	Stirbt am 23. Juli: Gewicht 630 g. Leber normal, leichteste Veränderungen im Darm. Vom 15. Juli an war die mikroskopische Untersuchung der Fäeces immer negativ. Wahrscheinliche Todesursache: Emeticusvergiftung.
2	600	2. Juli 1912	dgl.	Stirbt am 23. Juli. Anatomische Veränderungen sind Todesursache, wie No. 1.
3 und 4	500 und 600	dgl.	9. Juli 1912 13,4 mg Operment per os, am 12., 15., 18. Juli 18 mg, am 22., 24., 26., 29. Juli und 1. August 22,5 mg.	Getötet am 6. August. Gewicht 670 g resp. 800 g. Leichteste Veränderungen der Leber, Darm normal. Die mikroskopische Untersuchung der Fäeces war immer positiv.
5 und 6	650 und 520	dgl.	2., 8., 19. Juli 10 cg Arsenophenylglycin u. die Haut.	Ein Kaninchen stirbt am 20. Juli mit allen klinischen und anatomischen Symptomen der akuten Coccidiose; das andere wurde am 6. August getötet: tiefe und schwere Läsionen der Leber und des Darms.
7 und 8	600 und 520	dgl.	8. Juli 0,3 ccm Fowlersche Lösung per os, am 10., 12. und 14. 0,3 ccm, am 16., 18., 20., 22., 24. 0,5 ccm.	Ein Kaninchen stirbt am 24. Juli, das andere am 1. August. Gewicht 570 resp. 480 g. Schwere Läsionen der Leber und des Darms.
9 u. 10[1])	580, 560, 550	dgl.	—	Zwei Kaninchen sterben am 17. u. 19. Juli. Hochgradige Diarrhöe und typische anatomische Veränderungen. Das dritte Kaninchen wurde am 8. Juli getötet: im Darm flüssige Fäeces, mit sehr zahlreichen reifen Coccidienformen und Merozoiten.

1) Kontrolle.

Schließlich wurden 2 Kaninchen 9mal, und 2 jeden 2. Tag $^1/_3$—$^1/_2$ ccm der Fowlerschen Lösung per os verabreicht.

Die 6 Kaninchen der dritten Reihe wurden der kombinierten Behandlung mit Atoxyl und mit dem Emeticum per os unterzogen; die Behandlung wurde 2 Tage nach der Infektion angefangen, und zwar mit der Absicht, die Schizogonie bei ihrem Beginn zu beeinflussen. Hierzu wurden wir durch die bei einem getöteten Kontrolltier (Tabelle 2, No. 10) gemachte Beobachtung veranlaßt, daß bereits 6 Tage nach der Infektion die Schizogonie eine sehr lebhafte ist, so daß man im Darminhalt zahlreiche Merozoiten antrifft. Den Tieren werden während 14 Tagen jeden zweiten Tag kleine Dosen Atoxyl (0,04—0,06 g) und Natriumsalz (0,005 bis 0,0085 g) verabreicht.

Bei einer letzten Reihe von Kaninchen wurde eine wiederholte Behandlung mit Auripimentum durchgeführt. Jedem dieser Tiere wurden während 6 Tagen täglich 5 Pillen zu 0,0045 g verabreicht; die Behandlung begann 2 Tage nach der Infektion.

Die Fowlersche Lösung, das Atoxyl und das Emeticum wurden mittels einer Magensonde eingeführt, um sicher zu sein, daß die ganze Dosis in den Körper gelangte. Die Emeticum-Lösung wurde tropfenweise angewendet; jede Dosis wurde mit 5—6 ccm Wasser verdünnt, um die schädliche kaustische Wirkung der konzentrierten Lösung auf die Schleimhäute zu vermeiden.

Tabelle III.

Wiederholte und kombinierte Behandlung mit Atoxyl und Natriumantimonyltartrat.

No.	Gewicht des Tieres am Anfang des Versuches	Infektionstag	Behandlung	Schluß des Versuches am	Gewicht des Tieres am Schluß des Versuches	Resultat
1	750 g	5. Aug. 1912	7. Aug. 1912: 4 cg Atoxyl per os 8. Aug. 1912 5 mg Emeticum per os 9. Aug. 1912 5 cg Atoxyl per os 10. Aug. 1912 6 mg Emeticum per os 11. Aug. 1912 6 cg Atoxyl per os 12. Aug. 1912 6 mg Emeticum per os 16. Aug. 1912 6 cg Atoxyl per os	26. Nov. 1912	1750 g	Getötet: Normal
2	760 g	5. Aug. 1912	dgl.	dgl.	1650 „	Getötet: Normal
3	620 „	dgl.	dgl.	15. Nov. 1912	1200 „	Stirbt: Leichteste Veränderungen der Leber, Darm normal, Todesursache unbekannt
4	750 „	dgl.	dgl.	26. Nov. 1912	1600 „	Getötet: Normal
5	730 „	dgl.	dgl.	dgl.	1900 „	Getötet: Normal
6	740 „	dgl.	dgl.	dgl.	1850 „	Getötet: Normal

Für die Kontrollen siehe die Tabelle IV.

Während der Behandlung wurde auf das Gewicht der behandelten Tiere und auf ihren allgemeinen Zustand Rücksicht genommen und beobachtet, ob Diarrhöe. Appetitlosigkeit und Abmagerung eintrat.

Jeden dritten Tag wurden die Faeces auf Coccidien untersucht.

Die wichtigsten Resultate sind in den vier folgenden Tabellen kurz zusammengefaßt; es stützen sich zwar nicht alle auf eine beträchtliche Anzahl von Tieren; jedoch eignen sich einige infolge ihrer Klarheit zu einigen genauen Schlußfolgerungen.

In erster Linie scheint es, als könne man sicher behaupten, daß man, selbst in den allerersten Perioden der Infektion mit einer einzigen subkutanen Einspritzung von einer hohen Dosis jener Mittel, die sich bei sonstigen Proben bedeutend wirksam erwiesen haben, wie das Atoxyl und das Natrium emeticum eine erfolgreiche Therapia sterilisans magna schwerlich durchführen kann. Man wird jedoch noch untersuchen müssen, ob diese Substanzen imstande sind, mit einem Mal den Organismus zu sterilisieren, wenn sie auf dem Wege des Verdauungsapparates eingeführt werden, welches, wie die Experimente der Tabellen 2 und 3 gezeigt haben, sich als ebenso geeignet, wenn nicht geeigneter, wie die subkutane Einverleibung erwiesen hat.

Tabelle IV.

Wiederholte Behandlung mit Operment.

No.	Gewicht des Tieres am Anfang des Versuches	Infektionstag	Behandlung	Schluß des Versuches am	Gewicht des Tieres am Schluß des Versuches	Resultat
1	630 g	5. Aug. 1912	7. Aug. 1912 9 mg Operment per os 8. Aug. 1912 13,5 mg Operment per os 9. Aug. 1912 18 mg Operment per os 10., 11., 12. Aug. 22,5 mg Operment per os	20. Sept. 1912	925 g	Getötet: Leichteste Veränderungen der Leber; Darm normal
2	750 g	5. Aug. 1912	dgl.	dgl.	1100 „	Getötet: Normal
3	680 „	dgl.	dgl.	dgl.	750 „	Getötet: Schwere Veränderungen der Leber; Darm normal
4	610 „	dgl.	dgl.	19. Aug. 1912	580 „	Stirbt: Leber krank
5	700 „	dgl.	dgl.	20. Sept. 1912	950 „	Getötet: Normal
6	700 „	dgl.	dgl.	2. Sept. 1912	770 „	Stirbt: Leber krank
7[1])	700 „	dgl.	—	15. Aug. 1912	—	Stirbt: Anatomische u. klinische Symptome der allgemeinen akuten Coccidiose
8[1])	720 „	dgl.	—	dgl.	—	dgl.
9[1])	750 „	dgl.	—	19. Aug. 1912	—	dgl.
0[1])	700 „	dgl.	—	31. Aug. 1912	—	dgl.

1) Kontrolle, auch für den Versuch der Tabelle III.

Das Arsenophenylglycin entfaltete, sowohl bei einmaliger wie bei mehrmaliger Verabreichung, fast keine Wirkung; es blieb ebenso wirkungslos, wenn man — nach dem von mehreren Seiten für die Trypanosen empfohlenen Verfahren — auf eine einzige Gabe dieses Mittels eine Behandlung mit anderen Mitteln folgen ließ.

In der Tat, vergleicht man die Versuche 1 und 2 der 2. Tabelle mit denjenigen der 3. Tabelle, so sieht man deutlich, daß die ziemlich guten Resulate, die bei ersteren erzielt wurden, nicht auf das Arsenophenylglycin, sondern auf das Atoxyl und das Emeticum zurückzuführen sind. Und daß nichtsdestoweniger diese Resultate weniger günstig als bei der 3. Experimentenreihe waren, das kann vielleicht zum Teil mit der Tatsache zusammenhängen, daß bei der 3. Reihe auch das Atoxyl per os verabreicht wurde; es hängt aber auch damit zusammen, daß bei dem 1. und 2. Versuch der 3. Reihe die Behandlung mit Atoxyl und Emeticum etwas spät, d. h. nach einer ersten Einspritzung vor Arsenophenylglycin eingeleitet wurde, welche höchstwahrscheinlich wirkungslos gewesen war, wie sich auch aus der positiven Untersuchung der Faeces ergab.

Mit dem Auripimentum wurden, wie gesagt, zwei verschiedene Versuche angestellt; bei dem einen wurde die Behandlung einige Tage nach der Infektion, bei dem andern hingegen zwei Tage nach derselben, d. h. zu einer Zeit eingeleitet, wo entweder noch keine Lokalisierung der Coccidien in den Geweben vorhanden war oder sich solche gerade bildeten. Wie vorauszusehen war, erhielten wir die besten Erfolge im zweiten Fall, obwohl sich auch hier das Auripimentum nicht als ein sehr wirksames Mittel erwiesen hat, so daß es zweckmäßig sein wird, weitere Experimente anzustellen und bei denselben das genannte Mittel in geeigneter Weise mit anderen zu kombinieren, wie man es bei der Trypanose zu tun pflegt. Das könnte auch bei dem Kampf gegen die Ausbreitung der Coccidiose wichtig sein, denn aus unseren Beobachtungen geht hervor, daß selbst wenn das Auripimentum eine Besserung des Zustandes des Tieres herbeiführt und die Darmläsionen beschränkt oder beseitigt, nichtsdestoweniger die Faeces fortfahren, an Occysten reich zu sein, was hingegen bei der mit Atoxyl und Emeticum behandelten Tieren nicht der Fall ist.

Abgesehen nun von den mit der Fowlerschen Lösung ausgeführten Versuchen, die erfolglos waren, ist hervorzuheben, daß sich die Kombination Atoxyl + Natrium emeticum wirklich wirksam erwiesen hat, und zwar nicht nur in bezug auf das Endresultat, welches fast stets die Heilung war, sondern auch weil die Faeces — wie bereits erwähnt — nach kurzer Zeit bei der mikroskopischen Untersuchung coccidienfrei gefunden wurden.

Diese Resultate waren es, die uns dazu veranlaßten, unsere Untersuchungen zu veröffentlichen, da es uns schien, sie könnten als nützlicher Hinweis dienen, und zwar nicht nur bei der Therapie, sondern auch bei der Prophylaxe der Coccidiosen, einer Gruppe von Krankheiten, die für Tiere und Menschen bekanntlich eine große Bedeutung haben.

Nachdruck verboten.

Zur Theorie der Wassermann-Neisser-Bruckschen Reaktion, unter besonderer Berücksichtigung der Versuche an Kaninchen.

[Aus dem Hygienischen Institut (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer) und der Dermatologischen Klinik (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. A. Neisser) der Königlichen Universität zu Breslau.]

Von Privatdoz. Dr. **Carl Prausnitz** und **Margarete Stern.**

Untersuchungen über den wirksamen Bestandteil des Cholera-Antigens[1]) hatten ergeben, daß die alkohollöslichen Bestandteile der Choleravibrionen keinerlei antigene Wirkung im Komplementbindungsversuch oder im Tierversuch besitzen. Es war dadurch wahrscheinlich gemacht, daß entsprechend der von R. Pfeiffer vertretenen Auffassung das Cholera-Antigen den echten Eiweißkörpern angehört. Aus dem Rahmen dieser Verhältnisse, insbesondere der Bordet-Gengouschen Reaktion, fällt dagegen ganz heraus die Wassermann-Neisser-Brucksche Reaktion bei Syphilis. Sie ist nach der heute herrschenden Ansicht überhaupt den eigentlichen Antigen-Antikörperreaktionen nicht einzureihen, da nach den Feststellungen von Porges und Meier, Levaditi u. a. die alkohollöslichen Bestandteile syphilitischer wie auch normaler Organe von Menschen und Tieren mit syphilitischen Seris Komplement binden können. Es erschien indessen von theoretischer Bedeutung, festzustellen, ob aus syphilitischen Organen durch den Alkohol die wirksamen Substanzen quantitativ ausgezogen würden oder ob im Organ ein in Alkohol unlöslicher wirksamer Rest zurückbliebe, der mit syphilitischem Serum Komplement bindet und den man dann mit der Leibessubstanz des Syphiliserregers in Beziehung bringen könnte. Ferner haben wir von ähnlichen Gesichtspunkten aus festzustellen gesucht, ob im Tierversuch die Injektion 1) wässeriger und 2) alkoholischer Extrakte aus syphilitischen Organen zur Ausbildung einer positiven Wassermann-Neisser-Bruckschen Reaktion führe.

I.

Zunächst haben wir wässerige und alkoholische Extrakte syphilitischer Organe mit dem Rückstand nach Alkoholextraktion verglichen in bezug auf ihre komplementbindende Wirkung mit syphilitischen Seris.

Zu diesem Zwecke wurde eine typische syphilitische Fötenleber, die im Dunkelfeld Spirochäten aufwies, fein zerhackt, im Luftstrom von 45° (Dauer 8 Stunden) und über Nacht im Exsikkator bei 37° C vollends getrocknet. Von einem Teil des Pulvers wurde eine 2-proz. Aufschwemmung in $^1/_2$ Proz. Phenol enthaltender physiologischer Kochsalzlösung hergestellt, 12 Stunden geschüttelt und $^1/_2$ Stunde bei 5300 Touren zentrifugiert. Die opalisierende Flüssigkeit, „Extrakt Ia", stellte das wässerige Extrakt dar.

Ein anderer Teil wurde im 10-fachen Volumen physiologischer Kochsalzlösung verrieben, vorsichtig mit 40 Teilen absoluten Alkohols versetzt, 18 Stunden geschüttelt und 2mal je $^1/_2$ Stunde bei 5300 Touren

1) Prausnitz, C., Zur Frage nach der Natur des Cholera-Antigens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 59. p. 434.)

zentrifugiert. Die klare, gelbliche Flüssigkeit, „Extrakt IIa", stellte den in 80-proz. Alkohol löslichen Leberextrakt dar.

Der Rückstand nach Alkoholextraktion wurde nochmals mit Alkohol (80 Proz.) aufgenommen und wieder zentrifugiert. Der so gewaschene Rückstand wurde mit der gleichen Quantität phenolisierter Kochsalzlösung wie Extrakt Ia 12 Stunden geschüttelt und durch ganz kurzes Zentrifugieren nur von den gröbsten Bröckeln befreit. Diese noch stark trübe Suspension der alkohol-unlöslichen Bestandteile wurde als „Extrakt IIIa" bezeichnet.

Demnach waren die 3 Extrakte im Verhältnis zum Ausgangsmaterial von gleicher Konzentration und sind untereinander ohne weiteres vergleichbar.

Eine Prüfung dieser Extrakte mit verschiedenen Patientenseris ergab folgendes Resultat. (Serum 0,2 ccm; die Sera wurden sowohl aktiv als inaktiv in der Konzentration 1:4 verwendet. Extraktmenge im inaktiven Versuch 0,25, im aktiven Versuch 0,2 ccm. Sämtliche Versuche mit halben Dosen angesetzt.)

Wassermann-Neisser-Brucksche Reaktion.

Serum No.	Nach der in der Hautklinik üblichen Technik angestellt mit:			
	Extrakt Ia (wässerig)	Extrakt IIa (alkoholisch)	Extrakt IIIa (Alkohol-Rückstand)	dem zu den regelmäßigen Untersuchungen verwendeten alkoholischen Lues-Leber-Extrakt
37 113, inaktiv	+	+	0	+
aktiv	+	+	0	+
37 109, inaktiv	+	+	0	+
aktiv	+	+	0	+
37 096, inaktiv	Kuppe	gr. Kuppe	0	+
aktiv	+	+	0	+
37 092, inaktiv	0	+	0	+
aktiv	+	+	0	+
37 112, inaktiv	0	+	0	+
aktiv	+	+	0	+
37 087, inaktiv	0	0	0	0
aktiv	Kuppe	+	0	0

In allen Fällen war der alkoholische Extrakt am stärksten und sichersten wirksam. Das positive Resultat bei Serum „37 087, aktiv" ist deshalb zweifelhaft, weil es sich hier um einen Tabiker mit negierter syphilitischer Infektion handelt. Der wässerige Extrakt war nur in einem Teil der Fälle wirksam, wie das ja mit sonstigen Erfahrungen in Einklang steht. Dagegen hatte der Alkoholrückstand in keinem Falle komplementbindende Wirkung. Auch bei weiteren 10 aktiv und inaktiv untersuchten syphilitischen Seris hatte der Alkoholrückstand in Mengen von 0,25 und sogar von 0,5 ccm keinerlei Wirkung.

Ferner wurde nach dem oben beschriebenen Verfahren die Trockenleber mit 96-proz. Alkohol extrahiert. Wieder reagierte der alkoholische Extrakt (IIb) mit 3 syphilitischen Seris typisch positiv, während der Rückstand (IIIb) auch hier stets negativ blieb.

Demnach gehen die komplementbindenden Reaktionsstoffe syphilitischer Organe quantitativ in 80-proz. wie auch in 96-proz. Alkohol über.

Es könnte zunächst zweifelhaft erscheinen, ob es sich hier um echte alkoholische Lösungen oder um Suspensionen feinster unlöslicher Teilchen in Alkohol handelt. Wenn auch die letztere Möglichkeit mit Rück-

sicht auf die absolut negative Reaktion des Alkoholrückstandes unwahrscheinlich war, so konnte doch eine sichere Entscheidung der Frage, wie wie den eingangs erwähnten Untersuchungen über das Choleraantigen erst durch die Filtration durch bakteriendichte Filter erzielt werden. Zu diesem Zwecke verwendeten wir ein Berkefeld-Filter, das unmittelbar nach dem Gebrauch mit sterilem Wasser durchgespült, dann mit einer Prodigiosus-Emulsion beschickt und als bakteriendicht befunden wurde. Der zu filtrierende Extrakt wurde in üblicher Weise aus einer spirochätenreichen syphilitischen Fötenleber mit 96-proz. Alkohol hergestellt. Solche Extrakte sind nun zur Filtration zunächst nicht geeignet; denn in diesen anfangs völlig klaren Lösungen bildet sich im Eisschrank nach kurzer Zeit ein Niederschlag, der für das Zustandekommen der Reaktion sehr wesentlich ist und daher jedesmal vor dem Anstellen der Reaktion aufgeschüttelt werden muß. Um nun diesen Niederschlag nicht zu verlieren, haben wir ihn durch einstündige Erwärmung des Extraktes auf 37° aufgelöst und dann erst die Filtration vorgenommen. Durch Komplementbindung mit 5 syphilitischen Seris wurde festgestellt, daß zwischen dem unfiltrierten und dem filtrierten Extrakt qualitative Unterschiede nicht bestehen. Denn alle 5 syphilitischen Sera reagierten mit beiden Extrakten glatt positiv.

Demnach ist es nach unseren Beobachtungen sehr wahrscheinlich, daß im Reagenzglasversuch die Komplementbindung mit syphilitischen Seris durch einen lipoiden Bestandteil des Organextraktes bedingt wird.

Daß auch die wässerigen Extrakte aus syphilitischer Leber eine annähernd so starke Wirksamkeit zeigen wie die alkoholischen, braucht nicht gegen vorstehende Annahme zu sprechen. Denn während die alkoholischen Extrakte, wie erwähnt, echte klare Lösungen sind, stellen die wässerigen Extrakte stets mehr oder weniger getrübte Flüssigkeiten, also Emulsionen dar. Die Annahme liegt also nahe, daß die in wässerigen Extrakten vorhandenen Kolloide auch solche Lipoidsubstanzen in Suspension zu halten vermögen.

II.

Im Anschluß an die beschriebenen Untersuchungen wandten wir uns der Frage zu, ob bei Versuchstieren durch Vorbehandlung mit alkoholischen wie wässerigen Extrakten syphilitischer Organe eine positive Wassermann-Neisser-Bruck sche Reaktion erzielt werden kann. Die Hauptschwierigkeit bei der Entscheidung dieser Frage lag darin, daß erfahrungsgemäß bei Kaninchen und Affen schon normalerweise das Serum öfters eine positive, von Tag zu Tage sich sprungweise ändernde Reaktion aufweist. Zu dieser Frage liegen bereits mehrere Untersuchungen vor, unter denen wir in erster Linie die Arbeiten von Citron und Munk[1]) und von Franz Blumenthal[2]) nennen. Die ersteren Autoren injizierten 3 Kaninchen mit wässerigen Extrakten syphilitischer Fötenleber, 2 Kaninchen mit Extrakten aus normaler Fötenleber und 2 mit alkoholischen Extrakten aus normalem Meerschweinchenherz. Nur mit dem Serum der ersten 3 Tiere wurde eine positive Komplementbindungsreaktion gegenüber dem alkoholischen Extrakt aus syphilitischer Fötenleber erzielt. Die Tiere hatten zwar vor Anstellung des Versuchs eine negative Reaktion gezeigt, jedoch scheint uns der Versuch nicht allzuviel zu beweisen. Denn Citron und Munk haben die Komplementbindungs-

1) Citron u. Munk, Dtsch. med. Wochenschr. 1910. p. 1560.
2) Blumenthal, Berlin. klin. Wochenschr. 1911. p. 1462.

reaktion mit so hohen Dosen von Serum und Extrakt angestellt, daß sie die bereits erwähnten, normalerweise auftretenden Reaktionsschwankungen des Kaninchenserums in keiner Weise ausschließen konnten. Aus diesem Grunde scheinen auch die ziemlich weitgehenden Schlußfolgerungen der Autoren kaum begründet, wonach allein das wässerige Extrakt ein echtes Antigen enthalten soll und die Reaktion zwischen diesem Extrakt und dem Serum von Syphilitikern, analog dem Kaninchenserum, eine echte Antigen-Antikörperreaktion sein soll.

Die nach diesen Versuchen naheliegende Frage, ob auch die alkoholischen Extrakte syphilitischer Organe beim Kaninchen eine positive Komplementbindungsreaktion auslösen können, ist zuerst von Franz Blumenthal in Angriff genommen worden. In einer Reihe von sorgfältigen Versuchen gelang es ihm, am Kaninchen durch Injektion wässeriger Extrakte von syphilitischer Fötenleber eine stark positive Reaktion auszulösen, während mit alkoholischen Extrakten aus syphilitischen Organen dieser Erfolg nicht erzielt werden konnte. Durch Herabsetzung der im Komplementbindungsversuch benutzten Extraktdosis auf die Hälfte und der Serumdosis auf ein Viertel der sonst verwendeten Quanten glaubte Blumenthal nach zahlreichen Vorversuchen positive Reaktionen bei normalen Kaninchen ausschließen zu können. Wenigstens hat er bei dieser Anordnung niemals ein Resultat gesehen, das man „bei menschlicher Syphilis als positiv bezeichnet hätte".

Die vorliegenden Befunde sind schwer mit unserer Auffassung vom Wesen der Wassermann-Neisser-Bruckschen Reaktion vereinbar. Mit dem hier postulierten Begriff einer echten Antigen-Antikörperreaktion kann man schlecht in Einklang bringen, daß nur die Sera der mit wässerigem, nicht aber die Sera der mit alkoholischem Extrakt syphilitischer Organe behandelten Kaninchen mit einem alkoholischen Extrakt syphilitischer Organe positiv reagieren sollen.

Ehe wir unsere hierauf gerichteten Untersuchungen aufnahmen, erschien es zunächst erforderlich, die Untersuchungen normaler Kaninchensera auf eine breitere Basis zu stellen und womöglich eine Dosierung von Extrakt und Serum festzustellen, bei der das Auftreten solcher störender Reaktionen bei unvorbehandelten Kaninchen ausgeschlossen werden konnte. Zu diesem Zwecke sind mehrere Hundert Kaninchensera, zum Teil wiederholt, auf ihre Reaktion geprüft worden. Zur Verwendung kam ausnahmslos ein und derselbe Extrakt, der aus syphilitischer Fötenleber durch Behandlung mit 96-proz. Alkohol gewonnen war. Derselbe Extrakt diente nicht nur für alle noch zu beschreibenden Versuche, sondern auch für die in der Dermatologischen Klinik regelmäßig täglich ausgeführten Untersuchungen der zur Diagnose eingesandten Patientensera. Zu diesen klinischen Untersuchungen wurde er in der Dosis von 0,25 ccm verwandt.

Vorversuche bestätigten die Tatsache, daß normale Kaninchensera in der Menge von 0,2 ccm mit der vollen Extraktdosis (0,25 ccm) ganz unzuverlässig reagieren.

Nunmehr wurde unter Beibehaltung der Serummenge (0,2 ccm) die Extraktdosis zunächst auf 0,15 ccm (= $^3/_5$ der üblichen Menge) reduziert: bei 9 von 30 Kaninchen fand sich noch eine ganz oder fast positive Reaktion. Wurde der Extrakt auf 0,1 ccm (= $^2/_5$ der üblichen Menge) verringert, so reagierten immer noch 4 von 37 Tieren fast oder ganz positiv. Auch mit der Blumenthalschen Modifikation, bei der die Serumdosis auf $^1/_4$, die Extraktdosis auf $^1/_2$ herabgesetzt wurde, gelang es nicht, mit unserem Extrakt zufriedenstellende Resultate zu erzielen. Brauchbare Ergebnisse wurden erst erhalten, als die Serummenge auf

0,05 ccm (= 1/4 Dosis), die Extraktmenge auf 0,0625 ccm (= 1/4 Dosis) oder sogar 0,03125 ccm (= 1/8 Dosis) erniedrigt wurde[1]).

Hämolyse im Komplementbindungsversuch bei Verwendung von 1/4 Serumdosis und

1/4 Extraktdosis	1/8 Extraktdosis
173 Kaninchensera, davon:	91 Kaninchensera, davon:
170 Kaninchensera komplett gelöst	90 Kaninchensera komplett gelöst
3 Sera Hämolyse stark gehemmt	1 Serum Hämolyse stark gehemmt

Auf Grund dieser Vorversuche wurden bei der Prüfung der immunisierten Kaninchensera nur diejenigen als positiv betrachtet, die bei obiger Anordnung eine volle positive Reaktion ergaben. Alle diejenigen Grade von Hämolyse, die sonst mit den Ausdrücken „inkomplett" und „kleine Kuppe" bezeichnet werden, wurden bei unseren Untersuchungen ganz außer acht gelassen. Die Reaktionen „fast +", „große Kuppe" und „Kuppe" dagegen sind in den Versuchsprotokollen der Vollständigkeit halber mit aufgeführt.

Nach diesen grundlegenden Feststellungen wurde nunmehr zur Injektion der Kaninchen mit den verschiedenen Extrakten geschritten. Mit dem bereits beschriebenen wässerigen Extrakt „Ia" wurden 3 Tiere behandelt, ohne daß eine positive Reaktion erzielt wurde. Der 80-proz. alkoholische Extrakt „IIa" wurde 3 Kaninchen injiziert, wobei jedesmal vor der Injektion der Alkohol im 45° C Luftstrom verjagt wurde, um etwaige Nebenwirkungen des Alkohols auf die Gesundheit sowie auf die Serumreaktion der Tiere auszuschließen[2]). Bei einem von diesen (Kaninchen 142) entwickelte sich eine positive Reaktion.

Ferner haben wir eine Reihe von Tieren mit wässerigen und alkoholischen Extrakten behandelt, die nach dem ursprünglichen Verfahren hergestellt wurden:

1) Eine 20-proz. Aufschwemmung fein gehackter, syphilitischer Fötenleber in phenolisierter Kochsalzlösung wurde 24 Stunden geschüttelt, 12 Stunden sedimentiert und dann abgegossen — „Extrakt Ic".

2) Eine 10-proz. Aufschwemmung fein gehackter, syphilitischer Fötenleber in 96-proz. Alkohol wurde 24 Stunden geschüttelt und dann durch Papier filtriert. Aus 450 ccm dieses Extraktes wurde der Alkohol bei 37° C im Vakuum verjagt, und der Rückstand in 40 ccm 1/2 Proz. Phenol enthaltender, 0,8-proz. Kochsalzlösung aufgenommen.

Mit dem wässerigen Extrakt Ic wurden 5 Tiere behandelt, von denen sich bei einem (Kaninchen 91) eine stark positive, bei einem anderen (Kaninchen 11) eine unvollkommene, aber deutlich positive Reaktion

1) Es lag nahe, zur Ausschaltung unspezifischer Hemmungen beim normalen Kaninchen mit der von Halberstaedter (Berlin. klin. Wochenschr. 1912. p. 594) vorgeschlagenen Versuchsanordnung zu arbeiten. Halberstaedter suchte unter Beibehaltung der sonst üblichen Technik durch Verwendung aktiver Sera die unspezifischen Bindungen zu vermeiden und hat gute Resultate beschrieben.

Wir haben 31 Kaninchen aktiv und inaktiv mit den in der Hautklinik im allgemeinen Komplementbindungsversuch angewandten Mengen von Serum (0,2 ccm), Extrakt (0,25 ccm) und Komplement (0,1 ccm) untersucht und mußten feststellen, daß kein einziges Serum auf beide Methoden zugleich negativ reagierte. 20 Sera zeigten sich aktiv und inaktiv positiv. Von den übrigen 11 Seris wiesen 8 inaktive und 4 aktive Sera eine mehr oder minder starke Hämolyse auf, während die übrigen Sera positiv reagierten. Alle 31 Tiere, die später in unseren Versuchen verwendet wurden, waren bei Einhaltung der von uns gefundenen herabgesetzten Serummengen (0,05) und Extraktmengen (0,0625 und 0,03125 ccm) bei dreimaliger Blutentnahme glatt negativ. Wir haben daher unsere Untersuchungen nur mit inaktiven Seris ausgeführt.

2) Inwieweit bei früheren Untersuchungen über die Wirkung alkoholischer Extrakte im Tierversuch auf diesen, unseres Erachtens wichtigen Punkt Rücksicht genommen wurde, ist aus den einschlägigen Arbeiten nicht ersichtlich.

Datum	Gewicht	Impfdosis	Wassermann-Neisser-Bruck-Reaktion des Serums: Serum 0,05 ccm; Extraktmenge: $^1/_4$ Dosis	$^1/_8$ Dosis	$^1/_{16}$ Dosis	$^1/_{32}$ Dosis	Serum 0,1 kein Extr. (Kontrolle)	Bemerkungen
Kaninchen 91.								
21. Dez. 1911	1700	0,2 ccm Extr. IIc (alkohol.) intravenös	kompl.	kompl.	.	.	kompl.	
30. „ „	1650	0,4 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
6. Jan. 1912	1670	1,0 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
13. „ „	1730	1,5 „ „ „ „ „	.	.		.	.	
20. „ „	1680	1,5 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
29. „ „	1930	—	+	+	.	.	kompl.	
			+	+	+	Kuppe	„	Nachuntersucht 16. Febr. 1912
5. Febr. „	.	—	+	+	+	„	kompl.	
			+	+	kl. Kuppe	kompl.	„	Nachuntersucht 16. Febr. 1912
12. „ „	.	—	+	+	inkompl.	„	kompl.	
			fast +	fast +	Kuppe	kl. Kuppe	„	Nachuntersucht 20. Febr. 1612
20. „ „	.	—	fast +	fast +	gr. Kuppe	Kuppe	kompl.	
			+	+	kl. Kuppe	inkompl.	„	Nachuntersucht 27. Febr. 1912
12. März „	.	—	+	fast +	Kuppe	fast kompl.	„	
23. April „	.	—	kl. Kuppe	kompl.	kompl.	—	„	
Kaninchen 11.								
5. Febr. 1912	.	.	kompl.	kompl.	.	.	kompl.	
7. „ „	.	.	„	„	.	.	„	
13. „ „	.	.	fast kompl.	„	.	.	„	
21. „ „	1900	0,1 ccm Extr. Ic (wäßrig) intravenös	.	.	.	.	.	
2. März „	1990	0,2 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
9. „ „	2210	0,4 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
16. „ „	2150	0,4 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
25. „ „	2120	0,8 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
5. April „	2360	—	Kuppe	gr. Kuppe	gr. Kuppe	Kuppe	kompl.	
			gr. Kuppe	+	fast +	kompl.	„	Nachuntersucht 9. April 1912
10. „ „	2360	1,6 ccm Extr. Ic (wäßrig) intravenös	.	.	.	.	.	
22. „ „	2140	2,5 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
9. Mai „	2320	2,5 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
21. „ „	2480	2,5 „ „ „ „ „	Kuppe	inkompl.	inkompl.	fast kompl.	kompl.	
28. „ „	2330	2,5 „ „ „ „ „	inkompl.	„	„	inkompl.	„	
12. Juni „	2420	.	Kuppe	kl. Kuppe	kl. Kuppe	kl. Kuppe	„	

Datum	Gewicht	Impfdosis	Wassermann-Neisser-Bruck-Reaktion des Serums: Serum 0,05 ccm; Extraktmenge: 1/1 Dosis	1/8 Dosis	1/16 Dosis	1/32 Dosis	Serum 0,1 kein Extr. (Kontrolle)	Bemerkungen
Kaninchen 142.								
27. Okt. 1911	1460	2 ccm Extr. IIa (alkohol.) intravenös	kompl.	kompl.	.	.	kompl.	
3. Nov. „	1480	3 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
21. „ „	1590	4 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
14. Dez. „	1670	6 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
21. „ „	1640	10 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
3. Jan. 1912	1570	3 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
12. „ „	1390	—	+	fast +	.	.	kompl.	Phlegmone nach Bißverletzung. † 19. Jan 1912
Kaninchen 92.								
17. Nov. 1911	.	—	komplett	.	.	.	kompl.	
21. Dez. „	2060	0,2 ccm Extr. Ic (wäßrig) intravenös	fast kompl.	kompl.	.	.	„	
30. „ „	2090	0,4 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
6. Jan. 1912	2080	1,0 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
13. „ „	2110	1,5 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
20. „ „	2050	1,5 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
29. „ „	2260	—	+	+	.	.	kompl.	Nachuntersuchung am 5. Febr. 1912
			+	+	+	inkompl.	„	
5. Febr. „	.	—	+	+	+	„	„	Nachuntersuchung am 16. Febr. 1912
			+	+	fast kompl.	kompl.	„	
12. „ „	.	—	kleine Kuppe	kompl.	kompl.	„	„	
20. „ „	.	—	starke „	Kuppe	Kuppe	inkompl.	„	
12. März „	.	—	kleine „	kompl.	kompl.	kompl.	„	
23. April „	.	—	kompl.	„	„	„	„	
Kaninchen 13.								
6. Febr. 1912	.	.	kompl.	kompl.	.	.	kompl.	
9. „ „	.	.	„	„	.	.	„	
13. „ „	.	.	„	„	.	.	„	
21. „ „	2200	0,1 ccm Extr. IIc (alkohol.) intravenös	.	.	.	.	.	
2. März „	2210	0,2 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
9. „ „	2270	0,4 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
16. „ „	2260	0,4 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
25. „ „	2400	0,8 „ „ „ „ „	.	.	.	.	.	
5. April „	2520	—	+	inkompl.	fast kompl.	kompl.	kompl.	
10. „ „	2570	1,2 ccm Extr. IIc (alkohol.) intravenös	—	—	—	—	—	
22. „ „	2460	1,2 „ „ „ „ „	+	inkompl.	kompl.	—	kompl.	
9. Mai „	2640	1,2 „ „ „ „ „	—	—	—	—	—	
21. „ „	2570	1,0 „ „ „ „ „	gr. Kuppe	inkompl.	fast kompl.	kompl.	kompl.	
28. „ „	2430	1,0 „ „ „ „ „	fast kompl.	kompl.	kompl.	„	„	
12. Juni „	2440	.	inkompl.	inkompl.	inkompl.	inkompl.	„	

entwickelte. Mit dem alkoholischen Extrakt IIc wurden 5 Tiere behandelt, von denen 2 (Kaninchen 92 und 13) nach der Behandlung stark positiv reagierten [1]). Die in dieser zweiten Serie erhaltenen günstigeren Resultate sind wohl auf Unterschiede in der Herstellung der Extrakte zurückzuführen. In der Tat erwiesen sich Extrakt Ic und IIc im Komplementbindungsversuch den Extrakten Ia und IIa wesentlich überlegen. Inbezug auf die Einzelheiten der Versuche sei auf die Protokolle verwiesen. Die Sera wurden zur Sicherheit nach der Entnahme stets wiederholt in mehrtägigen Intervallen untersucht, wobei sich jedoch nur geringfügige Schwankungen zeigten. Von Interesse ist, daß die einmal erreichte positive Reaktion bei 2 Tieren (Kaninchen 11 und 13) trotz Fortsetzung der Injektionen sich allmählich zurückbildete, während sie bei anderen wochenlang erhalten blieb (vgl. die Protokolle).

Es ergibt sich hieraus, daß alkoholische Extrakte syphilitischer Organe in etwa dem gleichen Verhältnis wie die wässerigen Extrakte bei intravenöser Injektion an Kaninchen eine positive Wassermann-Reaktion hervorrufen können. In diesen Versuchen wurde die Reaktion unter sehr strengen Kautelen vorgenommen, um etwaige durch unspezifische Reaktion der Versuchstiere bedingte Fehler auszuschließen. Die positive Reaktion blieb längere Zeit hindurch einigermaßen konstant und schwand erst allmählich. Bei einem Tier, dem mit alkoholischem Extrakt behandelten Kaninchen 91, war sie noch etwa 7 Wochen nach der letzten Injektion deutlich nachweisbar.

Nach den auf p. 546/47 gemachten Bemerkungen war es noch nötig, festzustellen, daß wirklich die in Alkohol gelösten Substanzen bei der Injektion am Kaninchen das Zustandekommen der Wassermann-Reaktion bewirken. Wir haben daher in einer neuen Versuchsreihe 10 Kaninchen unter gleichen Kautelen mit dem oben beschriebenen Berkefeld-Filtrat des Alkoholextraktes aus syphilitischer Fötenleber behandelt und zugleich weitere 10 Kaninchen in gleicher Weise zur Kontrolle mit halb so großen Quantitäten des unfiltrierten Extraktes injiziert. In der Kontrollserie wurden nach 3 Injektionen bereits 2 vollkommen positive Reaktionen erzielt; von den mit filtriertem Extrakt gespritzten Kaninchen zeigte eines nach ebensoviel Injektionen eine fast vollständig positive Reaktion. Bei je 3 anderen Tieren wurden in beiden Serien weniger ausgesprochene Hemmungen der Hämolyse beobachtet. Hiernach hat die Filtration zwar eine gewisse Schädigung des Extraktes bewirkt, die ja nach allen Erfahrungen über die Adsorption durch Filtermaterial von vornherein zu erwarten war. Immerhin ist das Versuchsergebnis ein derartiges, daß die Alkohollöslichkeit des Antigens nunmehr kaum zweifelhaft sein kann.

An dieser Stelle sei noch erwähnt, daß gleichzeitig mit den Extrakten Ic und IIc mit entsprechenden Mengen je ein Tier mit dem Rückstand nach Alkoholextraktion syphilitischer Fötenleber, mit wässerigem und alkoholischem Extrakt aus normalem Rinderherzen und mit Lecithol (Riedel) gespritzt wurde, ohne je die geringste Andeutung einer Serumreaktion zu zeigen. Auf diese relativ spärlichen Resultate ist naturgemäß kein großes Gewicht zu legen. Um ein bestimmtes Urteil zu gewinnen, ob es sich hier um eine für Syphilis charakteristische Reaktion

1) Hierzu ist zu bemerken, daß von den beiden Extrakten Ic und und IIc nicht gleiche Mengen der gleichen Quantität des Ausgangsmaterials entsprechen; vielmehr wurde aus der Gewichtseinheit syphilitischer Leber ein 5mal so konzentrierter alkoholischer wie wässeriger Extrakt gewonnen. Es sei dahingestellt, ob die etwas größere Intensität der Reaktion bei den mit Alkoholextrakt vorbehandelten Tieren hiermit zusammenhängt.

handelt, haben wir auf den Vorschlag von Professor Scheller eine weitere Versuchsreihe ausgeführt, bei der unter genau gleichen Bedingungen je 8 Kaninchen mit (1) alkoholischem Extrakt syphilitischer Fötenleber, und (2) alkoholischem Extrakt aus normaler menschlicher Fötenleber behandelt wurden. Falls nur in der ersten Serie positive Reaktionen erzielt wurden, so war die für die Syphilis charakteristische Natur der Reaktion erwiesen. Wenn aber in beiden Serien positive Reaktionen gefunden wurden, so bestand immer noch die Möglichkeit, daß es sich hier um Substanzen handelte, die nicht für Lues, sondern nur für das menschliche Organ überhaupt charakteristisch wären, z. B. Menscheneiweißpräzipitine. Diesen von Professor Sachs erhobenen Einwand suchten wir dadurch zu erledigen, daß wir gleichzeitig und unter genau denselben Bedingungen weitere 8 Kaninchen mit (3) alkoholischem Extrakt aus Ochsenleber injizierten.

Das Serum der Tiere wurde, wie bereits beschrieben, vor Beginn der Versuche dreimal im Abstand von 3—4 Tagen untersucht und erwies sich vollkommen negativ. Die Injektionen erfolgten intravenös in Abständen von 5—7 Tagen mit steigenden Dosen. Die Blutentnahmen wurden immer am 8. Tag nach der letzten Injektion gemacht. Von den mit syphilitischem Leberextrakt behandelten Tieren reagierten schon nach der dritten Injektion 2 Tiere mit $^1/_4$ und $^1/_8$ Extraktdosis vollständig positiv und behielten diese Reaktion bis zum Schluß der Versuche unverändert. Bei einem weiteren Tiere trat nach der 5. Injektion eine vollständige positive Reaktion mit $^1/_4$ Extraktdosis ein, die ebenfalls bestehen blieb. Drei Tiere waren dauernd negativ, bei zwei Tieren traten halbe Hemmungen ein, auf die wir aber, wie oben ausgeführt wurde, keinen prinzipiellen Wert legen wollen.

Dagegen zeigte in den beiden Kontrollserien kein Tier auch nur Andeutungen einer positiven Reaktion.

Hieraus schließen wir, daß die Komplementbindung im Serum von Kaninchen, die mit syphilitischen Organextrakten vorbehandelt wurden, als charakteristisch für Syphilis aufzufassen ist. Die Gesamtzahl der von uns erhaltenen vollkommen positiven Reaktionen betrug bei den mit wässerigem Extrakt behandelten 8 Kaninchen 2, bei den mit alkoholischen Extrakten behandelten 26 Kaninchen 8. Von einer Wiedergabe der letzten Protokolle haben wir abgesehen, weil diese Versuche in der Technik nichts wesentlich neues boten. Der Prozentsatz der positiven Reaktionen könnte allerdings als relativ niedrig auffallen. Indessen ist zu bedenken, daß bei der verwendeten Technik der Komplementbindung, das ist bei der Benutzung relativ kleiner Mengen von Extrakt und von Serum, nur ganz außerordentlich markante Serumreaktionen beobachtet werden können, während alle schwächeren Reaktionen unbeachtet bleiben. Wir haben es aber trotzdem vorgezogen, auf solche scheinbar günstigeren Resultate zu verzichten, um vor einer Trübung der Versuche durch die bei Kaninchen gefürchtete unspezifische Reaktion sicher zu sein.

Schlußfolgerungen.

1. Aus syphilitischen Fötenlebern lassen sich in Bestätigung früherer Untersuchungen sowohl mit physiologischer Kochsalzlösung wie auch mit 80- und 96-proz. Alkohol Extrakte darstellen, die in vitro mit syphilitischen Seris einwandsfreie Komplementbindung zeigen. Die alkoholischen Extrakte erwiesen sich als stärker und sicherer wirksam. Die alkoholischen Extrakte behielten auch nach Filtration durch bakteriendichte

Filter ihre Wirksamkeit im Komplementbindungsversuch. Dagegen war der Rückstand nach Alkoholextraktion der syphilitischen Organe absolut unwirksam.

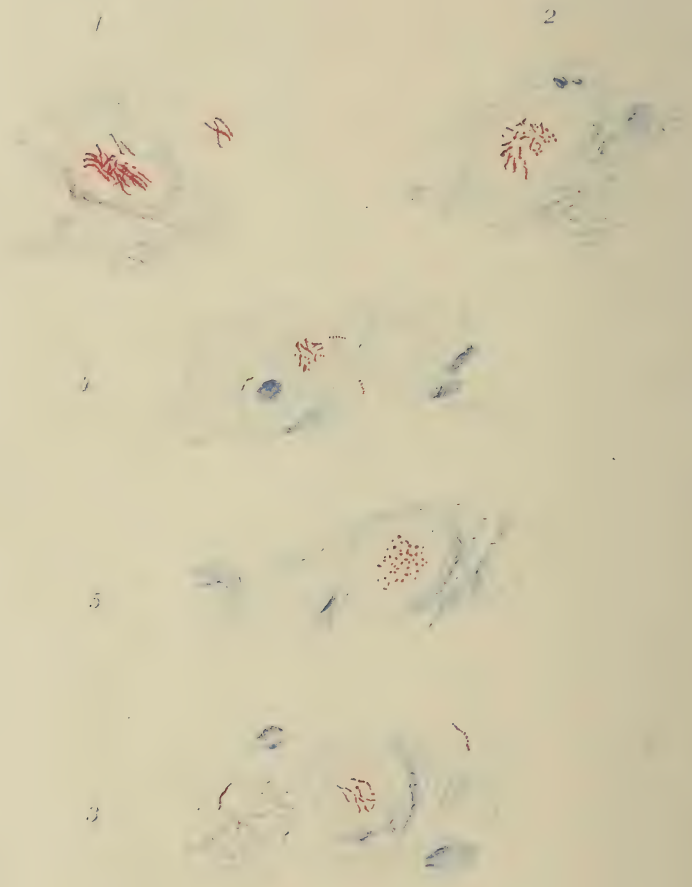
2. Die Untersuchung der antigenen Wirkung wässeriger und alkoholischer Extrakte im Tierversuch ist gestützt auf sehr zahlreiche Vorarbeiten über die Reaktion normaler Kaninchensera. Bei den meisten bisher verwendeten Versuchsanordnungen besteht nämlich die Möglichkeit einer Täuschung durch unspezifische Reaktionen. Selbst bei Benutzung von nur $^1/_4$ der üblichen Extrakt- und Serummengen kamen unter 173 Normalkaninchenseris noch 2 deutliche, wenn auch nicht vollkommene Hemmungen vor. Daher kann nur eine volle positive Reaktion, die bei diesen und womöglich noch niedrigeren Extraktdosen beobachtet wird, als beweisend gelten. Natürlich hängt die anzuwendende absolute Menge von der Wirksamkeit des jeweilig benutzten Extraktes ab.

3. Bei intravenöser Injektion von Kaninchen mit alkoholischen und wässerigen Extrakten syphilitischer Organe wurde in etwa einem Drittel der Fälle festgestellt, daß eine vorher absolut negative in eine sicher positive Wassermann-Neisser-Brucksche Reaktion umschlug. Diese positive Reaktion wurde bei einigen Tieren noch bis zu $^1/_{16}$ der üblichen Extraktdosis hinab beobachtet und hielt wochenlang an. Der alkoholische Extrakt war auch nach Filtration durch bakteriendichte Filter imstande, bei Kaninchen eine deutliche, wenn auch nicht ganz vollständig positive Reaktion auszulösen. Demnach handelt es sich hier um alkohollösliche Substanzen, vermutlich um Lipoide. Diese Substanzen aus syphilitischer Leber sind für die Syphilis insoweit charakteristisch, als Kontrollserien mit (unfiltrierten) alkoholischen Extrakten normaler menschlicher Fötenleber und tierischer Leber durchweg negative Reaktionen ergaben.

Ob neben diesen Körpern noch andere unspezifisehe Substanzen bei der Entstehung der Wassermann-Reaktion eine Rolle spielen, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

4. Nach den meisten bisherigen Erfahrungen konnte man nur mit Substanzen aus der Gruppe der Eiweißkörper, nicht aber mit alkohollöslichen Stoffen eine Antigenbildung hervorrufen, d. h. die Bildung echter Antikörper im Tiere auslösen. In unseren Versuchen gelang es dagegen, durch einen alkohollöslichen Körper syphilitischen Ursprunges im Tierkörper spezifische Reaktionskörper zu erzeugen, die eine positive Wassermann-Neisser-Brucksche Reaktion zeigten. Hiernach ist es wahrscheinlich, daß die Wassermann-Neisser-Brucksche Reaktion nicht in den Rahmen der bisher bekannten echten Antigen-Antikörperreaktionen gehört.

5. Ob die in Reaktion tretenden Lipoide überhaupt aus den Leibessubstanzen der Spirochäten oder aus dem durch den syphilitischen Prozeß krankhaft veränderten Organ stammen, muß zunächst zweifelhaft scheinen,



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

und ist zur Zeit der Gegenstand weiterer Versuche. Wir haben aus diesem Grunde vermieden, von einer spezifischen Reaktion zu reden und anstatt dieses zu viel präsumierenden Wortes den Ausdruck „charakteristisch“ verwendet.

Nachdruck verboten.

Einige Bemerkungen über Splitter-Sputa von Carl Spengler.

[Instit. f. Hygiene d. Universität Parma. Direktor: Prof. E. Bertarelli.]

Von Dr. **Fabrizio Maffi.**

Mit 1 Tafel.

Es wurde von C. Spengler behauptet, daß viele Sputa, in welchen die gewöhnlichen Formen von Tuberkelbacillen nicht nachgewiesen werden können, doch von Tuberkulösen abstammen und in direktem Zusammenhang mit tuberkulösen Prozessen stehen. Spengler bemerkt, daß, wenn das Auge sich an die Untersuchung gewöhnt, gewisse splitterartige Formen sich unterscheiden lassen, die die Bedeutung bacillärer Modalitäten haben.

Spengler berichtet weiter, daß er diese Splitter kultiviert und sie zahlreich aufgefunden, wo sie vorher nur selten vorhanden waren, und bacillenartige Formen dort erzeugt habe, wo vorher nur splitterartige zu sehen waren.

Durch Untersuchung vieler tuberkulöser Sputa habe ich mich von der Häufigkeit dieser Formen überzeugt, aber wenn ich diese Splitter fand, habe ich mit Fleiß und Ausdauer nach Bacillen von mehr oder weniger normaler Form gesucht, und zwar immer mit positivem Erfolge.

Die nebenstehenden Abbildungen stammen von einem einzigen Präparate ab, und scheinen mir geeignet, die verschiedenen Formen, von den normalen bis zu den splitterartigen und weiter zu den granulären, zu zeigen.

Ich setze meine Untersuchungen in allen Fällen, die sich mir vorstellen, fort, um die Bedeutung dieser säurefesten Splitter und ihre Beziehungen zu den normalen und den Muchschen Formen aufklären zu können, möchte aber bemerken, daß die experimentellen Beweise Spenglers nicht als absolut überzeugend anzusehen sind, da ich in einem einzelnen Präparate Splitter, granuläre und normale Formen erkannt habe, weswegen es schwer ist, die gänzliche Abwesenheit einer gewissen Form festzustellen, und man sich nicht auf einen negativen mikroskopischen Befund stützen kann.

Diese Bemerkungen beziehen sich auf die Genauigkeit der Kulturprobe; übrigens behaupte ich auch, daß die Splitterform für einen spontanen oder künstlichen, günstigen immunitären, individuellen Stand der Krankheit spricht.

Tafelerklärung.

1) Gruppe normaler, unversehrter K.-Bac.
2) 3) 4) Normale, verstückelte und granuläre K.-Bac.
5) Splitter-Sputa-Gruppe.

Nachdruck verboten.

Ueber die Verwendbarkeit der Blutalkalibouillon als Anreicherungsmittel für Choleravibrionen.

[Aus dem staatl. serotherapeut. Institute in Wien. (Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.)]

Von Dr. **Max Sgalitzer** und cand. med. **Otto Löwy.**

Die Choleradiagnostik hat durch die Verwendung des Dieudonnéschen Blutalkalilagars, der den bisher üblichen Nährböden, wie zahlreiche Untersuchungen sowie sein Gebrauch bei Choleraepidemieen bewiesen haben, bei weitem überlegen ist, einen großen Aufschwung genommen. Den Nachteil, daß er nicht sofort, sondern erst 18—24 Stunden nach Gießen der Platten benutzt werden kann, suchten Neufeld und Woithe[1]), Esch[2]), Pilon[3]), Hoffmann und Kutscher[4]) und Moldavan[5]) durch Modifikationen des Originalnährbodens zu beheben, die nach den eingehenden Untersuchungen von Haendel und Baerthlein[6]) dem Blutalkaliagar an Zuverlässigkeit zwar nicht gleichkommen, immerhin aber mit Vorteil benutzt werden können, falls eine rasche Diagnosestellung erforderlich ist.

Ist auch durch die praktische Verwendbarkeit eines festen elektiven Nährbodens für Choleravibrionen für die Diagnostik viel gewonnen, so ist damit doch noch nicht alles erreicht, da man auf die Anreicherungsmethode nicht verzichten kann. Von größter Wichtigkeit wäre daher ein zuverlässiger flüssiger Nährboden, der das Cholerawachstum wesentlich fördert, die übrigen Stuhlkeime aber unterdrückt. Die klassische Methode, die Peptonwasseranreicherung, wird diesen Forderungen nicht in ausreichendem Maße gerecht, da auch Vibrionen und andere Stuhlkeime in diesem Nährsubstrat gedeihen. In letzterer Zeit wurde von Ottolenghi[7]) als Ersatz des Peptonwassers eine neue Methode, die Choleraanreicherung in alkalischer Ochsengalle angegeben, ein Verfahren, das nach den Untersuchungen von Schürmann und Abelin[8]) durch Unterdrückung der Darmflora zwar leichter Reinkulturen der Choleravibrionen liefert als Peptonwasser, jedoch häufig versagt, wenn wenige Vibrionen im Ausgangsmaterial vorhanden sind, außerdem auch choleraähnliche Vibrionen zur Anreicherung bringt, demnach vor dem Peptonwasser keinen Vorteil bietet. Haendel und Baerthlein[9]) empfehlen die Peptonwasser- und Gallenanreicherung, die sich nach ihren Ergebnissen gegenseitig ergänzen können, nebeneinander zu verwenden.

In Anlehnung an den Dieudonnéschen festen und flüssigen Nährboden haben Neufeld und Woithe[10]) Versuche mit Blutalkalizusatz

1) Neufeld u. Woithe, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 33.
2) Esch, Dtsche mediz. Wochenschr. 1910.
3) Pilon, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 60.
4) Hoffmann u. Kutscher,
5) Moldavan, „Das österreichische Sanitätswesen". 1912. No. 8.
6) Haendel u. Baerthlein, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 40. 1912. H. 4.
7) Ottolenghi, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. 1. Orig. Bd. 58.
8) Schürmann u. Abelin, Arb. a. d. Institut z. Erforsch. d. Infektionskrankh. in Bern. H. VII.
9) Haendel u. Baerthlein, l. c.
10) Neufeld u. Woithe, l. c.

zu Peptonwasser angestellt, das zwar dadurch eine Steigerung seiner elektiven Fähigkeit für Choleravibrionen erfuhr, in gleicher Weise aber auch durch Zusatz größerer Alkalimengen zu Peptonwasser erzielt werden konnte. Weit günstigere Resultate bekamen Kraus, Zeki Zia und v. Zubrzycki[1]) bei ihren Versuchen mit Blutalkalibouillon, die vor der Verwendung in offenen Kölbchen durch 3 Stunden bei 50° C, dann 24 Stunden bei Bruttemperatur gehalten worden war. Die besten Resultate gab ein Nährmedium, das durch Mischung von 100 ccm lackmusneutraler Bouillon mit 25 ccm Blutalkali hergestellt wurde. Ausdrücklich wird betont, daß der Nährboden durch Vorversuche auf seine elektive Fähigkeit geprüft werden muß, da sich verschiedene Blutalkalilösungen in ihrer Wirksamkeit untereinander unterscheiden. Die fertige Blutalkalibouillon ist längere Zeit haltbar.

Eine Nachprüfung dieses Nährbodens durch Schürmann und Abelin[2]) ergab ein vollkommen negatives Resultat. Die Blutalkalibouillon blieb nach Einsaat von Reinkulturen von Choleravibrionen, cholera-ähnlichen Vibrionen und künstlichen Faeces-Gemischen nach 24-stündiger Bebrütung steril. Zu den entgegengesetzten Ergebnissen gelangen Haendel und Baerthlein[3]), die eine bedeutende Ueberlegenheit dieser Anreicherungsmethode gegenüber dem Peptonwasserverfahren feststellen konnten. Schon auf der gewöhnlichen Agarplatte konnten sie bei Versuchen mit künstlichen Faeces-Gemischen bei der Anreicherung in Blutalkalibouillon nach 5 Stunden Cholerakolonieen isolieren, was bei der Peptonwasseranreicherung fast niemals gelang; hier mußte stets der Dieudonnésche Nährboden zu Hilfe genommen werden. Nach 12-stündiger Bebrütung in Peptonwasser gelang bei spärlichem Gehalt an Choleravibrionen selbst bei Zuziehung der Dieudonnéschen Platte nicht mehr der Choleranachweis, bei Verwendung der Blutalkalibouillon aber auch auf der gewöhnlichen Agarplatte. Allerdings hat ihnen die Blutalkalibouillon in 2 Versuchen versagt.

Die große praktische Bedeutung, die der Frage nach einem elektiven Anreicherungsverfahren für Choleravibrionen zukommt, hat Prof. Kraus veranlaßt, das Verhalten der Blutalkalibouillon zu verschiedenen Darmbakterien noch einmal zahlenmäßig feststellen zu lassen. Zur Verwendung gelangten, wie die Tabellen zeigen, Nährböden mit verschiedenem Gehalt an Blutalkali (15, 20, 25, 30, 40 ccm Blutalkali zu 100 ccm lackmusneutraler Bouillon). Nach den Angaben von Kraus wurden die Kölbchen mit der Nährflüssigkeit — bloß mit sterilem Filterpapier verschlossen — vor ihrer Verwendung 3 Stunden im Wasserbad auf 50° C erwärmt, hierauf noch 24 Stunden bei Bruttemperatur belassen; die Nährlösung wurde in Eprouvetten à 5 ccm verfüllt und vor ihrem Gebrauch auf Sterilität geprüft. Zur Einsaat kam $^1/_{1000}$, $^1/_{5000}$, $^4/_{10000}$, $^1/_{100000}$ und $^1/_{500000}$ Normalöse einer 24-stündigen Schrägagarkultur von Cholera, Coli, Typhus, Vibrio Finkler, Faecalis alcaligenes und Shiga. Nach gutem Durchschütteln wurden der Bouillon sofort, hierauf nach 6-stündigem und schließlich nach 24-stündigem Stehen im Brutschrank eine Oese entnommen, Platten gegossen und die nach 24 Stunden aufgegangenen Kolonieen gezählt.

Eine vergleichende Betrachtung der Tabellen läßt jene Konzentration der Blutalkalibouillon, bei der zu 100 ccm der lackmusneutralen

1) Kraus, Zeki Zia, v. Zubrzycki, Wien. klin. Wochenschr. 1911. No. 30.
2) Schürmann u. Abelin, l. c.
3) Haendel u. Baerthlein, l. c.

Bouillon 20 ccm Blutalkali kommen, für eine rasche Anreicherung der Choleravibrionen am günstigsten erscheinen, da bei dieser Zusammensetzung bereits nach 6 Stunden — das ist die Zeit, nach der man meist der Nährflüssigkeit Material zum Streichen der Platten entnimmt — eine enorme Vermehrung der Choleravibrionen zu beobachten sein wird, während Coli vollkommen geschwunden sein, Faecalis alcaligenes sich nur minimal vermehrt haben wird. Eine stärker konzentrierte Blutalkalibouillon (25 ccm oder 30 ccm Blutalkali zu 100 ccm lackmusneutraler Bouillon) wird versagen, falls eine eventuelle Choleradiagnose rasch gestellt werden soll, nach 6 Stunden demnach schon Platten gegossen werden müssen, da nach dieser Zeit nicht nur keine Vermehrung, sondern meist eine Verminderung der Choleravibrionen eingetreten sein wird,

100 ccm Neutralbouillon + 15 ccm Blutalkali.
Eprouvetten à 5 ccm.

Oese	Cholera Sarnow			Cholera			Coli			Typhus Berger		
	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.
1/1000	8	∞	∞	155	28000	30000	248	440	+	120	198	+
1/5000	3	∞	∞	57	10000	+	50	158	∞	35	87	+
1/10000	0	∞	∞	30	5200	37000	18	200	+	10	63	+
1/100000	0	+	∞	0	800	35000	0	14	∞	2	1	+
1/500000	0	3250	50000	0	200	22000	1	1	+	1	0	7600

Oese	Vibrio Finkler			Faecalis alcalig.			Shiga-Kruse		
	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.
1/1000	0	80	1800	7	46	6900	47	150	+
1/5000	3	45	3040	3	2	6300	18	56	+
1/10000	0	23	1000	0	1	5500	3	42	+
1/100000	0	0	520	0	0	4200	0	2	+
1/500000	0	0	110	0	0	3600	0	1	+

100 ccm Neutralbouillon + 20 ccm Blutalkali.
Eprouvetten à 5 ccm.

Oese	Cholera Sarnow			Cholera			Coli			Typhus Berger		
	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.
1/1000	8	∞	∞	75	10000	23200	228	0	0	202	68	123
1/5000	3	∞	∞	51	1800	22000	39	0	0	62	38	98
1/10000	0	∞	∞	7	840	8800	16	0	0	18	5	0
1/100000	0	3000	∞	2	142	10000	2	0	0	0	0	0
1/500000	0	1200	+	0	27	20000	0	0	0	0	0	0

Oese	Vibrio Finkler			Faecalis alcalig.			Shiga-Kruse		
	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.
1/1000	9	33	1200	8	12	7200	77	168	15000
1/5000	8	21	1200	5	7	5300	13	187	120
1/10000	0	6	1600	1	3	4000	12	120	2400
1/100000	0	0	720	0	0	2200	3	102	420
1/500000	0	0	600	0	0	2050	0	92	1000

+ = über 50 000 Keime, aber nicht unendlich.

100 ccm Neutralbouillon + 25 ccm Blutalkali.
Eprouvetten à 5 ccm.

Oese	Cholera Sarnow			Cholera			Coli			Typhus Berger		
	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.
1/1000	104	168	+	25	4160	16800	270	2	0	122	8	1
1/5000	18	5	35000	28	1040	10500	126	1	0	45	0	0
1/10000	4	1	34000	6	630	12000	56	0	0	38	0	0
1/100000	1	0	50000	0	70	12000	3	0	0	3	0	0
1/500000	0	0	50000	0	1	9400	0	0	0	0	0	0

Oese	Vibrio Finkler			Faecalis alcalig.			Shiga-Kruse		
	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.
1/1000	10	30	3200	12	13	4500	56	15	17
1/5000	1	5	600	9	0	2100	19	3	150
1/10000	0	0	4800	2	0	1080	0	0	3
1/100000	0	0	5400	0	0	112	0	0	24
1/500000	0	0	2800	0	0	48	0	0	5

100 ccm Neutralbouillon + 30 ccm Blutalkali.
Eprouvetten à 5 ccm.

Oese	Cholera Sarnow			Cholera			Coli			Typhus Berger		
	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.
1/1000	81	50	35000	27	140	18400	33	0	0	226	0	0
1/5000	18	2	35000	4	19	15000	0	0	0	17	0	0
1/10000	5	0	30000	5	14	40000	0	0	0	7	0	0
1/100000	1	0	20000	0	0	19200	0	0	0	0	0	0
1/500000	0	0	18000	0	0	20600	0	0	0	0	0	0

Oese	Vibrio Finkler			Faecalis alcalig.			Shiga-Kruse		
	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.	gleich	6 St.	24 St.
1/1000	10	15	1480	7	0	880	45	0	0
1/5000	0	1	1000	3	0	592	3	0	0
1/10000	0	0	2400	1	0	248	2	0	0
1/100000	0	0	2000	0	0	12	1	0	0
1/500000	0	0	2500	0	0	10	0	0	0

+ = über 50 000 Keime, aber nicht unendlich.

100 ccm Neutralbouillon + 40 ccm Blutalkali.
Eprouvetten à 5 ccm.

Oese	Cholera Sarnow		
	gleich	6 St.	24 St.
	340	0	0
	130	1	0
	17	3	0
	4	0	0
	1	0	0

der dann freilich bald eine starke Anreicherung folgt. Am zweckmäßigsten wird die zuerst besprochene Konzentration in Verwendung gezogen, da

die Zahl der Choleravibrionen hier sowohl nach 6 wie nach 24 Stunden stets eine bedeutende Ueberlegenheit über jene der anderen Bakterien, die der Prüfung unterzogen wurden, aufweist.

Als großer Vorzug der Blutalkalibouillon gegenüber dem Peptonwasser ist, wie auch die Versuche von Haendel und Baerthlein[1]) an künstlichen Stuhlgemischen beweisen, die Unterdrückung der die Reinzüchtung beeinträchtigenden anderen Stuhlbakterien hervorzuheben, aber auch der choleraähnlichen Vibrionen, die in ihrer Entwickelung zwar nicht vollkommen gehemmt werden, sich aber doch nur in unvergleichlich geringerem Maße als Choleravibrionen vermehren. Dieselbe Ueberlegenheit besteht auch über die Methode der Gallenanreicherung, die nach Schürmann und Abelin[2]), wie bereits oben erwähnt, wenn wenige Vibrionen im Ausgangsmaterial vorhanden sind, versagt, außerdem auch choleraähnliche Vibrionen in ihrer Vermehrung sehr begünstigt.

Ebenso wie Haendel und Baerthlein[3]) sowie Schürmann und Abelin[4]) haben auch wir Versuche aufzuweisen, bei denen eine frisch zur Prüfung herangezogene Blutalkalibouillon, die in ganz gleicher Weise hergestellt worden war, versagt und neben den anderen Bakterien auch die Choleravibrionen vollkommen unterdrückt hat. Um sich vor einem derartigen Nachteil zu schützen, wird, wie schon Kraus hervorgehoben hat, die Blutalkalibouillon vor der Verwendung auf ihre Brauchbarkeit geprüft werden müssen.

Um die Nährflüssigkeit auch bei den ersten Erkrankungen einer Choleraepidemie verwerten zu können, wird man in jedem Laboratorium, das für derartige Untersuchungen in Betracht kommt, größere Mengen einer erprobten Blutalkalibouillon, die an kühlem Orte aufbewahrt, sehr lange haltbar ist, vorbereitet haben müssen.

Es wird sich empfehlen, bei etwa wieder auftretenden Choleraepidemieen von dieser Nährflüssigkeit, die durch ihre ausgezeichneten elektiven Fähigkeiten den bisher üblichen Methoden der Choleraanreicherung überlegen ist, ausgiebigen Gebrauch zu machen.

1) Haendel u. Baerthlein, l. c.
2) Schürmann u. Abelin, l. c.
3) l. c.
4) l. c.

Inhalt.

Bang, Oluf u. **Andersen, C. W.**, Einige Untersuchungen über komplementbindende Antistoffe bei experimenteller und spontaner Tuberkulose sowie bei paratuberkulöser Darmentzündung, p. 517.

Fermi, Claudio, Ueber Spezifizität und andere Eigenschaften der Ektoproteasen, p. 465.

Fischer, Alb., Die Säurebildung beim Bact. coli in Mischkulturen mit Bact. paratyphi, p. 474.

Gabbi, U., Ueber den Ursprung der Leishmaniosis interna (Kala-azar) vom Hunde, p. 504.

Galli-Valerio, B., Notes de parasitologie et de technique parasitologique et observations sur quelques tumeurs des animaux, p. 496.

Maffi, Fabrizio, Einige Bemerkungen über Splitter-Sputa von Carl Spengler, p. 555.

Ottolenghi, D. u. **Pabis, E.**, Chemotherapieversuche bei Kaninchencoccidiose, p. 538.

Prausnitz, Carl u. **Stern, Margarete**, Zur Theorie der Wassermann-Neisser-Bruckschen Reaktion, unter besonderer Berücksichtigung der Versuche an Kaninchen, p. 545.

Rothacker, Alfons u. **Charon**, Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen im strömenden Blut, p. 478.

Sgalitzer, Max u. **Löwy, Otto**, Ueber die Verwendbarkeit der Blutalkalibouillon als Anreicherungsmittel für Choleravibrionen, p. 556.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 69. Heft 8.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 69 enthaltenen Arbeiten.

Andersen, C. W. s. **Bang, Oluf.**

Angelis, G. de s. **Tizzoni, G.**

Aumann, Erfahrungen bei einigen in das Hamburger Staatsgebiet eingeschleppten Fällen von menschlicher Pesterkrankung. 353

Bang, Oluf und **Andersen, C. W.,** Einige Untersuchungen über komplementbindende Antistoffe bei experimenteller und spontaner Tuberkulose sowie bei paratuberkulöser Darmentzündung. 517

Berdnikow, A. J., Einige neue Ergebnisse über die Epidemiologie der Pest. Untersuchungen der Nagetiere der Astrachanschen Steppe. 251

Bongioannini, G. s. **Sangiorgi, G.**

Charon s. **Rothacker, Alfons.**

Cominotti, L., Ueber Sarkosporidin. 264

Dold, H. und **Rothacker, A.,** Experimentelle Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen im Samen tuberkulöser Menschen. 379

Eguchi, Ch. s. **Shiga, K.**

Eisenberg, Philipp, Untersuchungen über die Hämolyse durch chemische Agentien. 173

— und **Okolska, Marie,** Untersuchungen zur Theorie der Desinfektion. 312

Emmerich, R. und **Loew, O.,** Die Bakterizidie der Pyocyanase. Eine Zurückweisung der Abhandlung Isabolinskys im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 67. p. 532. 95

Eymer, H., Ist der Tetanusbacillus grampositiv? 1

Fermi, Claudio, Ueber Spezifizität und andere Eigenschaften der Ektoproteasen. 465

Fischer, Alb., Die Säurebildung beim Bact. coli in Mischkulturen mit Bact. paratyphi. Vorl. Mitt. 474

Frieber, Walther, Die Bedeutung der Gasabsorption in der Bakteriologie. 437

Gabbi, U., Ueber den Ursprung der Leishmaniosis interna (Kala-azar) vom Hunde. 504

Galli-Valerio, B., Notes de parasitologie et de technique parasitologique et observations sur quelques tumeurs des animaux. 496

Grote, L. R., Ueber die praktische Verwertbarkeit der Säureagglutination nach Michaelis. 98

Hachtel, Frank W. s. **Stokes, Wm. Royal.**

Hadley, Philip B., Studies on fowl cholera: II. Active immunity in rabbits. 271

Hahn, Arnold, Sternförmiger Plattenteiler. 228

Harkins, Malcolm J. s. **Reichel, John.**

Imai, N. s. **Shiga, K.**

Kapfberger, G. s. **Pfeiler, W.**

Kodama, H. und **Krasnogorski, N.,** Bakteriologische Befunde bei Erkrankungen der extrarenalen Harnwege bei Kindern und Erwachsenen. 8

Krasnogorski, N. s. **Kodama, H.**

Loew, O. s. **Emmerich, R.**

Löwy, Otto s. **Sgalitzer, Max.**

Lorentz, Friedrich H., Zur Dysenterie der Irrenanstalten. 113

Maffi, Fabrizio, Einige Bemerkungen über Splitter-Sputa von Carl Spengler. 555

— Tuberkelbacillen innerhalb der Eiterzellen tuberkulöser Sputa. 350

Messerschmidt, Th., Was leisten die von W. Pfeiler und W. Lentz angegebenen Nährböden in der Praxis? 107

Miyagawa, Yoneji, Beziehungen zwischen Schistosomiasis japonica und der Dermatitis, unter Berücksichtigung der Methode der Auffindung von Parasiteneiern in den Faeces, und Beiträge zur Kenntnis der Schistosomum-Infektion. 132

Mühlens, Bericht über eine Malariaexpedition nach Jerusalem. 41

Natonek, Desider s. **Raubitschek, Hugo.**

Nauwerck, C., Nochmals die „Durchbohrung des Duodenums und des Pankreas durch eine Tänie". 434

Okolska, Marie s. **Eisenberg, Philipp.**

Ottolenghi, D. und **Pabis, E.,** Chemotherapieversuche bei Kaninchencoccidiose. 538

Pabis, E. s. **Ottolenghi, D.**

Pfeiler, W. und **Kapfberger, G.,** Ueber die künstliche Uebertragung der Tollwut mit besonderer Berücksichtigung der Infektion der vorderen Augenkammer. 260

Poleff, L., Ueber den Bordet-Gengouschen Keuchhustenbacillus. 23

Praum, A., Das bakteriologische Staatslaboratorium in Luxemburg. 229

Prausnitz, Carl und **Stern, Margarete,** Zur Theorie der Wassermann-Neisser-Bruckschen Reaktion, unter besonderer Berücksichtigung der Versuche an Kaninchen. 545

Raubitschek, Hugo und **Natonek, Desider,** Ueber Unterschiede in den biologischen Eigenschaften der Typhusbacillen. 241

Reichel, John and **Harkins, Malcolm J.**, Peptotoxin production by the bacillus of contagious abortion of cattle. 142.
Rodella, A., Ueber die Granulosereaktion im Stuhle und ihre klinische Bedeutung. 167
Rothacker, Alfons s. a. **Dold, H.**
— und **Charon,** Das Vorkommen von Tuberkelbacillen im strömenden Blut. 478
Sangiorgi, G. und **Bongioannini, G.**, Eine Bacillenruhrseuche in Piemont. 37
Schilling, V., Ueber die feinere Morphologie der Kurloff-Körper und ihre Aehnlichkeit mit Chlamydozoen-Einschlüssen. II. Mit einem Zusatz über Rosssche Einschlüsse bei Syphilis. 412
Scordo, Francesco, Die Leukocyten des Meerschweinchens und des Kaninchens in Kontakt mit den Flagellatenformen der Leishmania Donovani in vitro und im Körper der Tiere. 85
Sgalitzer, Max und **Löwy, Otto,** Ueber die Verwendbarkeit der Blutalkalibouillon als Anreicherungsmittel für Choleravibrionen. 556
Shiga, K., Imai, N. und **Eguchi, Ch.**, Eine Modifikation von Bordet-Gengous Nährboden für die Keuchhustenbacillen nebst einigen Ergebnissen in serologischer Beziehung. 104
Skrjabin, K. J., Tracheophilus sisowi n. g. n. sp. Ein Beitrag zur Systematik der Gattung Typhlocoelum Stossich und der verwandten Formen. 90
Stern, Margarete s. **Prausnitz, Carl.**
Stokes, Wm. Royal und **Hachtel, Frank W.**, The use of a modified Hesse's medium for isolating the Typhoid Bacillus and the Cholera Spirillum from stools. 346
Tizzoni, G. und **De Angelis, G.**, Studien über die Biologie und die Morphologie des pleomorphen Streptobacillus der Pellagra. Vorläufiger Bericht. 5
Toenniessen, Erich, Ueber Wesen und Ursache der Mutation bei Bakterien. Untersuchungen über die Morphologie und Variabilität des Friedländerschen Pneumoniebacillus. 391
Trevisanello, Carlo, Untersuchungen über das Blutserum und die Cerebrospinalflüssigkeit von Epileptikern. 163

II. Sachverzeichnis.

Absorption, Gas-, Bedeutung in der Bakteriologie. 437
Agar-Plattenteiler, sternförmiger. 228
Agglutination des Keuchhusten-Bacillus (Bordet-Gengou). 25. 105
—, Säure-, Verwertbarkeit. 98
Alkalibouillon, Blut-, zur Anreicherung von Choleravibrionen. 556
Alkohol, Wirkung auf die Hämolyse. 198
Anaphylaxie s. Ueberempfindlichkeit.
Anas boschas, Wirt von Tracheophilus sisowi. 92
Anchylostomiasis, Vorkommen in Jerusalem. 66
Anopheles bifurcatus, Malariaübertragung in Jerusalem. 55
Antiseptika, Bindung an Bakterien. 329
Antistoffe, komplementbindende, bei Tuberkulose. 517
Apparat, Gärungs-. 454
Arsenophenylglyzin, Behandlung der Kaninchencoccidiose. 540
Atoxyl, Behandlung der Kaninchencoccidiose. 540
Atractis dactylura, Vorkommen. 496
Augenkammer, vordere, Wutübertragung. 260
Auripigment, Behandlung der Kaninchencoccidiose. 541
Auswurf, Splitter-, (Spengler). 555
—, tuberkul., Tuberkelbacillen innerhalb der Eiterzellen. 350
Bacillenruhr in Piemont, Bakteriol. 37
Bacillenträger, Verbreitung der Ruhr. 124
Bacillus des infekt. Abortes der Rinder, Peptotoxinbildung. 142
— acidi lactici, Wirkung auf modif. Hesse-Nährboden. 349
— alcaligenes, Wachstum auf modif. Hesse-Nährboden. 348
— anthracis, Wirkung von Pyocyanase. 95
— capsulatus (Friedländer), Wachstum auf modif. Hesse-Nährboden. 349
— cholerae suis, Wachstum auf modif. Hesse-Nährboden. 349
— cloacae, Gasbildung. 441
— —, Wachstum auf modif. Hesse-Nährboden. 349
— coli, Cystitis, Rolle bei derselben 8
— —, Gasbildung. 437
— —, Harnwege-Erkrankungen, Rolle bei denselben. 8
— —, Peptotoxinbildung. 159
— —, Säureagglutination. 100
— —, Säurebildung in Mischkulturen mit Bac. paratyphi. 474
— —, Wachstum auf modif. Hesse Nährboden. 349
— diphtheriae, Wirkung von Pyocyanase. 95
— dysenteriae, Untersuchung. 121
— —, Wachstum auf modif. Hesse-Nährboden. 349
— enteritidis, Säureagglutination. 102

Bacillus enteritidis, Wachstum auf modif. Hesse-Nährboden. 349
— faecalis alcaligenes, Säureagglutination. 102
— Fitzianus, Gasbildung. 447
— fluorescens, Wachstum auf modif. Hesse-Nährboden. 348
— — liquefaciens, Wachstum auf modif. Hesse-Nährboden. 348
— gasoformans, Wachstum auf modif. Hesse-Nährboden. 349
— influenzae, Differentialdiagnose von Keuchhustenbacillus. 105
— —, Opsoninversuche. 106
—, Keuchhusten-, (Bordet-Gengou), Agglutination. 25. 105
— —, — —, Biologie. 24
— —, — —, Differentialdiagnose von Bacillus influenzae. 105
— —, — —, Komplementbindung. 25. 105
— —, — —, Kultur. 104
— —, — —, Morphologie. 24. 30
— —, — —, Opsoninversuche. 105
— —, — —, Pathogenität für Tiere. 26
— —, — —, Spezifizität. 23. 104
— lactis aërogenes, Gasbildung. 444
— — —, Wachstum auf modif. Hesse-Nährboden. 349
— levans, Gasbildung. 439
— paracoli, Cystitis, Rolle bei derselben. 17
— paratyphi, Differentialdiagnose von Bac. typhi mittels Säureagglutination. 102
— —, Säurebildung in Mischkulturen mit Bac. coli. 474
— pneumoniae Friedländer, Morphologie. 396
— — —, Mutation. 395
— prodigiosus, proteolyt. Enzyme. 468
— proteus s. Proteus.
— pyocyaneus, Enzyme, proteolytische. 468
— —, Wachstum auf modif. Hesse-Nährboden. 348
— rhusiopathiae suis, Wirkung von Pyocyanase. 96
— subtilis, Wachstum auf modif. Hesse-Nährboden. 349
— suisepticus, Wirkung von Pyocyanase. 96
— tetani, Färbung. 1
— —, grampositiv. 1
— —, Peptotoxinbildung. 159
— tuberculosis innerhalb der Eiterzellen tuberkul. Sputa. 350
— —, Nachweis im Blute. 484
— —, Vorkommen im strömenden Blute. 478
— —, — im Samen Tuberkulöser. 379
— typhi s. a. Typhus abdominalis.
— —, Anreicherung. 110
— —, Differentialdiagnose von Bac. paratyphi mittels Säureagglutination. 102
— —, Isolierung aus den Faeces. 346
— —, Kulturelles. 244
— —, Peptotoxinbildung. 159
— —, Unterschiede in den biologischen Eigenschaften. 241
Bacillus typhi, Wachstum auf modifizierten Hesse-Nährboden. 348
— —, Wirkung von Desinfizientien. 312
Bacterium brassicae acidae, Gasbildung. 444
Bakterien, Bindungsweise der Antiseptika an dieselben. 329
—, Enzyme, proteolytische. 467
—, Färbung. 1
—, Gärung. 437
—, Gasbildung. 437
—, Granulosereaktion. 167
—, Hämolyse. 195
—, Mutation. 391
—, Säurebildung. 474
—, Variabilität. 398
—, Variation. 394
—, Vorkommon im Harne. 17
—, Wirkung von Pyocyanase. 95
Bakteriohämotoxine, Hämolyse. 195
Bakteriologie, Bedeutung der Gasabsorption 437
Bakterizidie durch Pyocyanase. 95
Bilharziose, Vorkommen in Jerusalem. 66
Blut, Bac. tuberculosis in demselben. 478
Blutalkalibouillon zur Anreicherung von Choleravibrionen. 556
Blutserum von Epileptikern, epileptogenes Prinzip in demselben. 163
Boophilus australis, Vorkommen 496
Bouillon, Blutalkali-, Zur Anreicherung von Choleravibrionen. 556
Cerebrospinalflüssigkeit von Epileptikern, epileptogenes Prinzip in derselben. 163
Chemikalien, hämolytische Wirkung. 173
Chemotherapie der Kaninchencoccidiose. 538
Chinin zur Malariabehandlung. 53
— zur Prophylaxe der Schistosomiasis. 140
Chlamydozoen und Kurloff-Körper, Aehnlichkeit. 412
Choetopsylla globiceps, Vorkommen. 496
Cholera s. a. Vibrio cholerae.
—, Diagnose, bakteriol. 346. 556
—, Geflügel- s. Geflügelcholera.
Coccidie in Leucodon araneus. 497
Coccidiose, Kaninchen-, Chemotherapie. 538
Culicada nigripes, Vorkommen. 496
Cystitis, durch Bac. coli verursacht. 8
—, Bac. paracoli, Rolle desselben. 17
—, Bakteriologie. 8
Darm-Bakterien, Granulosereaktion. 167
— -Entzündung, paratuberkulöse, Komplementbindung. 529
— -Parasiten, Vorkommen in Jerusalem. 66
Denguefieber, Vorkommen in Jerusalem. 62
Dermatitis und Schistosomiasis japonica, Beziehungen. 132
Desinfektion, Theorie. 312
Desinfizientien, Bindung an Bakterien. 329
Dialyse und Enzyme, proteolytische. 473
Duodenum, Durchbohrung durch eine Tänie. 434
Dysenterie s. Ruhr.
Echinococcus polymorphus, Vorkommen. 496

Eier, Parasiten-, Nachweis in den Faeces. 134
Einschlüsse, Rosssche, bei Syphilis. 432
Ektoproteasen, Spezifizität. 465
Enteritis chronica infectiosa bovis, Komplementbindung. 329
Enzyme, Ekto-, proteolyt., Spezifizität. 465
—, Pro-, proteolyt., Aktivierungsfolge. 468
—, proteolytische, bei Bakterien. 467
—, —, und Dialyse. 473
—, —, ontogenetische Erscheinungsfolge. 465
—, —, und Porzellanfiltration. 472
—, —, bei Säugetieren. 466
—, —, Wirkung von Licht. 469
—, —, — von Wärme. 469
Epileptiker, epileptogenes Prinzip im Blutserum. 163
—, — — in der Cerebrospinalflüssigkeit. 163
Erdhase, Pest. 254
Faeces, Choleravibrionenisolierung. 346
—, Granulosereaktion und ihre klinische Bedeutung. 167
—, Parasiteneier-Nachweis in denselben. 134
—, Schistosomum-Eier-Nachweis in denselben. 134
—, Typhusbacillenisolierung. 346
Färbung des Bac. tetani. 1
— der Kurloff-Körper. 423
— der Spirochäten. 504
Färse, Warzen. 502
Fieber, kontinuierliches, Vorkommen in Jerusalem. 62
Filtration, Porzellan-, und Enzyme, proteolytische. 472
Flöhe, Uebertragung der Leishmaniose. 505
Gärung durch Bakterien. 437
Gärungs-Apparat. 454
Gas-Absorption, Bedeutung in der Bakteriologie. 437
—, Bildung durch Bac. cloacae. 441
—, Bildung durch Bac. coli. 437
—, Bildung durch Bac. Fitzianus. 447
—, Bildung durch Bac. lactis aerogenes. 444
—, Bildung durch Bac. levans. 439
—, Bildung durch Bact. brassicae acidae. 444
—-Bildung durch Bakterien. 437
—, Bildung durch Proteus vulgaris. 447
Geflügelcholera, Immunisierung der Kaninchen gegen dieselbe. 271
—, Serumbehandlung. 299
—, Widerstandsfähigkeit der Meerschweinchen. 294
—, — der Ratten. 295
—, — der Tauben. 296
Geschwülste bei Mäusen. 501
— bei Ratten. 501
—, Vorkommen in Jerusalem. 67
Glyzerin, hämolytische Wirkung. 179
—, Wirkung auf die Hämolyse. 185
Gonorrhoe, Vorkommen in Jerusalem. 66
Granulosereaktion in den Faeces und ihre klinische Bedeutung. 167
Hämolyse durch Bakterien. 195
— durch Chemikalien. 173
— durch Glyzerin. 179
— durch Harnstoff. 179
—, Hemmung. 187
— durch Kobragift. 195
— durch Lipoidsolventien. 191
—, photodynamische. 199
— durch Salzlösungen, konzentrierte. 174
— durch Soda. 177
—, Wirkung von Alkohol. 198
—, Wirkung von Glyzerin. 185
—, Wirkung der Temperatur. 180
—, Wirkung von Zucker. 185
Harn, Bakterienflora. 17
Harnstoff, hämolytische Wirkung. 179
Harnwege, extrarenale, Erkrankungen, bakteriologische Befunde. 8
Haut, Dermatitis. 132
Herpetomonas scatophagae n. sp. bei Scatophaga stercoraria. 498
Hesses Nährboden zur Isolierung des Typhusbacillus und Choleravibrio. 346
Hunde, Keuchhusteninfektion. 33
—, Leishmaniosis interna. 504
—, Schistosomiasis-Infektionsversuch. 138
—, Wutinfektion. 263
Hunger, Widerstandsfähigkeit der Läuse. 501
Hydronephrose, bakteriolog. Befund. 12
Jerusalem, Hygiene. 69
—, Krankheiten. 59
—, Malaria. 41
—, Rückfallfieber. 59
—, Typhus abdominalis. 60
—, Wasserversorgung. 55
Immunisierung gegen Geflügelcholera. 271
— gegen Keuchhusten. 107
— gegen Sarkosporidin. 268
John's disease, Komplementbindung. 529
Irrenanstalten, Ruhr. 113
Kälber, Warzen. 502
Kala-azar beim Hunde, Ursprung. 504
—, Uebertragung durch Flöhe. 505
—, Vorkommen in Jerusalem. 63
Kaninchen-Coccidiose, Chemotherapie. 538
Kaninchen, Immunisierung gegen Geflügelcholera. 271
—, Keuchhusteninfektion. 31
—, Wutinfektion. 263
Keuchhusten s. a. Bacillus, Keuchhusten-(Bordet-Gengou).
—, durch Bacillus Bordet-Gengou verursacht. 23. 104
—, Hundeinfektion. 33
—, Kaninchen-Infektion. 31
—, Serumbehandlung. 107
Kobragift, Hämolyse. 195
Körperchen, Kurloffsche, u. Chlamydozoen, Aehnlichkeit. 412
—, —, Färbung. 423
—, —, Morphologie. 412
Komplementbindung bei Darmentzündung, paratuberkulöser. 529
— bei Enteritis chronica infectiosa bovis. 529

Komplementbindung mit Keuchhustenbacillus (Bordet-Gengou). 25. 105
— mit Milch tuberkulöser Rinder. 528
— (Wassermann), Theorie. 545
— bei Tuberkulose. 517
—, Wirkung von Tuberkulin. 530
Krätze der Ratte, durch Sarcoptes alepis verursacht. 499
Kurloff-Körper und Chlamydozoen, Aehnlichkeit. 412
—, Färbung. 423
—, Morphologie. 412
Laboratorium-, Staats-, bakteriologisches, in Luxemburg. 229
Laelaps agilis, Vorkommen. 496
Läuse, Widerstandsfähigkeit gegen Hunger. 501
Lamblia intestinalis, Vorkommen. 496
Leishmania canis und Leishmania hominis, Identität. 514
— donovani, Wirkung von Leukocyten. 85
— hominis und Leishmania canis, Identität. 514
Leishmaniosis interna beim Hunde, Ursprung. 504
— —, Uebertragung durch Flöhe. 505
Lentz' Nährboden, Leistungsfähigkeit. 107
Lepra, Vorkommen in Jerusalem. 63
Leucodon araneus, Coccidien in demselben. 497
Leukocyten, Wirkung auf Leishmania donovani. 85
Licht, Wirkung auf Enzyme, proteolytische. 469
Lipeurus heterogrammicus, Vorkommen. 496
Lipoidsolventien, Hämolyse. 191
Luxemburg, bakteriologisches Staatslaboratorium. 229
Mäuse, Geschwülste. 501
Magenschleimhaut, proteolytische Enzyme. 466
Malaria, Behandlung mit Chinin. 53
—, Bekämpfung. 70
— -Expedition nach Jerusalem, Bericht. 41
—, Uebertragung durch Anopheles bifurcatus. 55
—, Vorkommen in Jerusalem. 41
Maltafieber, Vorkommen in Jerusalem. 62
Meerschweinchen, Widerstandsfähigkeit gegenüber Geflügelcholera. 294
Mekonium, Granulosereaktion. 169
Milch tuberkulöser Rinder, Komplementbindung. 528
Moskitos, Bekämpfung. 78
Mund, Stomatitis ulcerosa. 66
Mus rattus s. Ratten.
Mutation des Bac. pneumoniae Friedländer. 395
— bei Bakterien. 391
Nährboden Hesses zur Isolierung des Choleravibrio und Typhusbacillus. 346
Nährböden nach Pfeiler und Lentz, Leistungsfähigkeit. 107
Nagetiere der Astrachanschen Steppe, Rolle bei der Pest. 251
Natriumantimonyltartrat, Behandlung der Kaninchencoccidiose. 540
Nephrolithiasis, bakteriologischer Befund. 12
Noma, Vorkommen in Jerusalem. 66
Opsoninversuche mit Influenzabacillen. 106
— mit Keuchhustenbacillen. 105
Orientbeule, Vorkommen in Jerusalem. 63
Oxyuris dentata, Vorkommen. 496
— longicollis, Vorkommen. 496
— obvelata, Vorkommen. 496
Pankreas, Durchbohrung durch eine Tänie. 434
—, proteolytische Enzyme. 466
Papain, Wirkung von Wärme. 470
Papillome bei Vögeln. 503
Pappatacifieber, Vorkommen in Jerusalem. 62
Parasiten-Eier, Nachweis in den Faeces. 134
Parasitologie, Technik. 504
Pediculus cervicalis, Widerstandsfähigkeit gegen Hunger. 501
— pubis, Widerstandsfähigkeit gegen Hunger. 501
— vestimenti, Widerstandsfähigkeit gegen Hunger. 501
Pellagra-Streptobacillus, Biologie und Morphologie. 5
Pepsin und Dialyse. 473
—, Wirkung von Wärme. 470
Peptotoxin, Bildung durch Bac. coli. 159
—, — durch den Bacillus des infektiösen Abortes der Rinder. 142
—, — durch Bac. tetani. 159
—, — durch Bac. typhi. 159
—, — durch Pneumococcus. 159
Pest, Bakteriologisches. 366
—, Epidemiologisches. 251. 372
— der Erdhasen. 254
—, Klinisches. 353
—, Rolle der Nagetiere. 251
— der Ziesel. 253
Polyplax reclinata, Vorkommen. 496
Porzellanfiltration und Enzyme, proteolytische. 472
Pfeilers Nährboden, Leistungsfähigkeit. 107
Phthirius s. Pediculus.
Piemont, Bacillenruhr. 37
Plattenteiler, sternförmiger. 228
Pneumococcus, Morphologie. 396
—, Mutation. 395
—, Peptotoxinbildung. 159
—, Wirkung von Pyocyanase. 95
Pocken s. Variola.
Proenzyme, proteolytische, Aktivierungsfolge. 468
Proteasen, Ekto-, Spezifizität. 465
Proteus, Gasbildung. 447
—, Wachstum auf modifiziertem Hesse-Nährboden. 348
Pyelitis, bakteriologischer Befund. 12
Pyonephritis, bakteriologischer Befund. 12
Pyocyanase, Wirkung auf Bac. anthracis. 95

Pyocyanase, Wirkung auf Bac. diphtheriae. 95
—, — auf Bac. rhusiopathiae suis. 96
—, — auf Bac. suisepticus. 96
—, — auf Pneumokokken. 95
—, — auf Streptococcus pyogenes. 95
—, — auf Vibrio cholerae. 95
Ratten, Geschwülste. 501
—, Krätze, durch Sarcoptes alepis verursacht. 499
—, Widerstandsfähigkeit gegen Geflügelcholera. 295
Reaktion, Wassermann-Neisser-Brucksche, Theorie. 545
Rinder-Tuberkulose, Komplementbindung. 517
Rinder, Warzen. 502
Ross' Einschlüsse bei Syphilis. 432
Rückfallfieber, Vorkommen in Jerusalem. 59
Ruhr, bakterielle, in Piemont, Bakteriologisches. 37
—, —, Verbreitung durch Bacillenträger. 124
—, —, Vorkommen in Jerusalem. 66
—, —, — in Irrenanstalten. 113
Säugetiere, proteolytische Enzyme. 466
Säureagglutination Michaelis, Verwertbarkeit. 98
Säurebildung bei Bac. coli in Mischkulturen mit Bac. paratyphi. 474
Salzlösungen, konzentrierte, hämolytische Wirkung. 174
Samen, Tuberkelbacillen in demselben bei Tuberkulose. 379
Sarcidiornis melanota, Wirt von Tracheophilus sarcidiornicola. 93
Sarcocystis muris, Beobachtungen. 497
— tenella, Sarkosporidin. 264
Sarcoptes alepis, Erreger der Krätze bei Ratten. 499
Sarkosporidin, Giftigkeit, Wirkung. 265
—, Immunisierung. 268
—, Ueberempfindlichkeit. 267
Scatophaga stercoraria, Herpetomonas scatophagae bei derselben. 498
Schafe, Wutinfektion. 263
Schistosomiasis, Hundeinfektionsversuch. 138
—, Prophylaxe mittels Chinins. 140
— japonica und Dermatitis, Beziehungen. 132
Schistosomum japonicum, Biologie. 140
— — -Eier, Nachweis in den Faeces. 134
— —, Infektionsweg. 132
Schwarzwasserfieber in Jerusalem. 54
Serum von Epileptikern, epileptogenes Prinzip in demselben. 163
Serumbehandlung der Geflügelcholera. 299
— des Keuchhustens. 107
— der Sarkosporidin-Vergiftung. 268
Simulium vittatum, Vorkommen. 496
Soda, hämolytische Wirkung. 177
Spirillum s. Vibrio.
Spirochäten, Färbung. 504
Splitter-Sputa (Spengler). 555
Sputum s. Auswurf.
Staatslaboratorium, bakteriologisches, in Luxemburg. 229
Stomatitis ulcerosa, Vorkommen in Jerusalem. 66
Streptobacillus der Pellagra, Biologie und Morphologie. 5
Streptococcus pyogenes, Wirkung von Pyocyanase. 95
Syphilis, Rosssche Einschlüsse. 432
—, Vorkommen in Jerusalem. 66
—, Wassermann-Neisser-Brucksche Reaktion, Theorie. 545
Taenia mediocanellata, Durchbohrung des Duodenum und Pankreas. 434
Tauben, Widerstandsfähigkeit gegen Geflügelcholera. 296
Technik, parasitologische. 504
Temperatur, Wirkung bei der Hämolyse. 180
Tetanus s. a. Bac. tetani.
Tiere, Geschwülste. 501
Tollwut s. Wut.
Toxin, Bakteriohämo-, Hämolyse. 195
—, Pepto-, Bildung durch den Bacillus des infektiösen Abortes der Rinder. 142
—, —, — durch Bac. coli. 159
—, —, — durch Bac. tetani. 159
—, —, — durch Bac. typhi. 159
—, —, — durch Pneumococcus. 159
Tracheophilus cymbium, Systematisches. 94
— obovalis, Anatomie, Vorkommen. 94
— sarcidiornicola, Anatomie, Vorkommen. 93
— sisowi n. g. n. sp., Anatomie, Vorkommen. 92
Trachom, Vorkommen in Jerusalem. 65
Trypsin und Dialyse. 473
—, Wirkung von Wärme. 469
Tuberkulin, Wirkung auf die Komplementbindung. 530
Tuberkulose, Komplementbindung. 517
— der Rinder, Komplementbindung. 517
—, Splitter-Sputa (Spengler). 555
—, Tuberkelbacillen im Samen. 379
—, Vorkommen in Jerusalem. 65
Typhlocoelum, Systematik. 90
— cymbium, Systematisches. 94
— obovale, Anatomie, Vorkommen. 94
— sarcidiornicola s. Tracheophilus sarcidiornicola.
Typhus abdominalis s. a. Bacillus typhi.
— —, Diagnose, bakteriologische. 346
— —, Vorkommen in Jerusalem. 60
— recurrens s. Rückfallfieber.
Ueberempfindlichkeit zur Epilepsie-Untersuchung. 163
— gegenüber Sarkosporidin. 267
Ulcus tropicum, Vorkommen in Jerusalem. 66
Variation bei Bakterien. 394
Variola, Vorkommen in Jerusalem. 67
Vibrio cholerae s. a. Cholera.

Vibrio cholerae, Anreicherung mittels Blutalkalibouillon. 556
— —, Isolierung aus den Faeces. 346
— —, Wachstum auf modifiziertem Hesse-Nährboden. 348
— —, Wirkung von Pyocyanase. 95
— Finkler-Prior, Enzyme, proteolytische. 468
— —, Wachstum auf modifiziertem Hesse-Nährboden. 349
— metschnikowi, Wachstum auf modifiziertem Hesse-Nährboden. 349
Vögel, Papillome. 503
Wärme, Wirkung auf Enzyme, proteolytische. 469
—, — auf Papain. 470
—, — auf Pepsin. 470
—, — auf Trypsin. 469
Warzen bei Färsen. 502
Wasser-Versorgung in Jerusalem. 55
Wassermann-Neisser-Brucksche Reaktion, Theorie. 545
Wut, Uebertragung durch die vordere Augenkammer. 260
—, Vorkommen in Jerusalem. 67
Ziesel, Pest. 253
Zucker, Wirkung auf die Hämolyse. 185

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Apparat, Gär-. 454
Auswurf, Keuchhusten-, Ausstrich (Taf.). 36
—, Splitter-, (Spengler), bei Tuberkulose (Taf., Fig. 5). 555
—, Tuberkelbacillen innerhalb der Eiterzellen (Taf.). 351
Bacillus, Keuchhusten-, (Bordet-Gengou), Morphol. (Taf.). 36
— pneumoniae Friedländer, Morphol. u. Variation (Taf.). 411
— tuberculosis im Auswurfe (Taf., Fig. 1—4). 555
— —, granuläre Form (Taf., Fig. 2—4). 555
— —, intrazellulare Lage (Taf.). 351
Duodenum, Durchbohrung durch Taenia mediocanellata (Taf. I, II). 436
Färse, Warzen. 502
Gärapparat. 454
Geschwülste bei Ratten. 501
Herpetomonas scatophagae n. sp., Morphol. 499
Jerusalem, Malariaexpedition (Taf. I—VI). 84
—, Stadtplan. 46
Kälber, Warzen. 502
Keuchhusten-Auswurf, Ausstrich (Taf.). 36
—-Bacillus (Bordet-Gengou), Morphol. (Taf.). 36
Körperchen, Kurloffsche, Morphol. (Taf. I, II). 425. 434
Krätze bei Ratten. 500
Kurloff-Körper, Morphol. (Taf. I, II). 425. 434
Laboratorium, Staats-, bakteriol., in Luxemburg. 230—239
Leishmania donovani in Kontakt mit Leukocyten (Taf.). 87
Leprakranke. 64
Leukocyten in Kontakt mit Leishmania donovani (Taf.). 87
Luxemburg, Staatslaboratorium, bakteriol. 230—239
Malaria-Expedition nach Jerusalem (Taf. I—VI). 84
—, mikrosk. Präparate (Taf. I, Fig. 7—15). 84
Mus rattus, Geschwülste. 501
Noma, Ausstrich (Taf. I, Fig. 1, 2). 84
Pankreas, Durchbohrung durch Taenia mediocanellata (Taf. I, II). 436
Papillome bei Vögeln. 503
Pest, Eiterpräparat. 366
—, schematische Darstellung der erkrankten Körperstellen. 362
Plattenteiler, sternförmiger. 228
Pneumococcus Friedländer, Morphol. u. Variation (Taf.). 411
Präparaten-Kasten zum Transport von Tropfenpräparaten. 44
Rachensekret gesunder Kinder, Ausstrich (Taf.). 36
Ratten, Geschwülste. 501
—, Krätze. 500
Rinder, Warzen. 502
Rückfallfieber, Tropfenpräparat (Taf. I, Fig. 4—6). 84
Sarcocystis muris, Morphol. 497. 498
Splitter-Sputa (Spengler) bei Tuberkulose (Taf., Fig. 5). 555
Staatslaboratorium, bakteriol., in Luxemburg. 230—239
Stomatitis ulcerosa, Ausstrich (Taf. I, Fig. 3). 84
Taenia mediocanellata, Durchbohrung des Duodenum u. Pankreas (Taf. I, II). 436
Tracheophilus sisowi n. g. n. sp., Anatomie (Taf.). 95
Tropfen-Präparate, Kasten zum Transport. 44
Tuberkulose, Splitter-Sputa (Spengler) (Taf., Fig. 5). 555
—, Tuberkelbacillen innerhalb der Eiterzellen des Auswurfes (Taf.). 351
Vögel, Papillome. 503
Warzen einer Färse. 502

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4293

UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA
589.05CE C001
ZENTRALBLATT FUR BAKTERIOLOGIE, PARASITE
69 1913
3 0112 009814671